

## 대두가수분해물 유래 펩타이드 투여가 자발성 고혈압 흰쥐의 혈중 지질 수준, 생화학적 지표 및 조직병리학적 변화에 미치는 영향

정선화 · 최민아 · 박정순 · 김길수\* · 정대균\*\* · 남희섭\*\*\* · 신재익\*\*\* · 유리나  
울산대학교 식품영양학과, \*아산생명과학연구소,  
\*\*경희대학교 유전공학과 및 유전공학 연구소, \*\*\*농심 상품개발연구소

### Effect of Dietary Soybean Hydrolysate on Plasma Lipid Profiles, Select Biochemical Indexes, and Histopathological Changes in Spontaneously Hypertensive Rats

Sun-Wha Chung, Min-Ah Choi, Jeong-Soon Park, Kil-Soo Kim\*, Dae-Kyun Chung\*\*, Hee-Sop Nam\*\*\*, Zae-Ik Shin\*\*\* and Rina Yu

Department of Food and Nutrition, University of Ulsan

\*Institute of Asan Life Science Research Center

\*\*Institute and Department of Genetic Engineering, University of Kyunghee

\*\*\*Research and Development Center, Nongshim

#### Abstract

Soybean (SoyPep) was prepared and evaluated their action on blood lipid profiles, select biochemical indexes and histopathological changes in spontaneously hypertensive rat (SHR). Male SHRs were divided into three groups and fed the experimental diet containing 0% (control), 3%, 10% SoyPep for 8 weeks. Lipids, antioxidant vitamin levels, glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) and glutamate pyruvate transaminase (GPT) activities in plasma were measured, and angiotensin I converting enzyme (ACE) activities in kidney, vascular tissue and plasma were also measured. In addition, histopathological changes in various organs were investigated. Dietary SoyPep was effective for lowering plasma levels of triglyceride and LDL-cholesterol. ACE activities in aorta and kidney were decreased in the group fed SoyPep compared to control. There was no difference of plasma GOT and GPT activities, and no histopathological difference in various organs among the experimental groups. Our results suggest that SoyPep has beneficial effects on diseases such as hypertension and atherosclerosis. SoyPep could be useful to develop a novel functional safe food additive for preventing the chronic diseases.

Key words: soybean peptide, atherosclerosis, ACE activity

#### 서 론

뇌졸중, 심근경색, 뇌혈관성치매 등은 죽상 동맥경화(atherosclerosis)가 기초질환인 혈관계 질병으로, 고지혈증(고콜레스테롤증)과 고혈압은 이들 혈관계 질병의 대표적인 위험인자이다<sup>(1)</sup>. 이들 질병의 발생은 유전적인 요인에 의해 발생하기도 하지만, 환경적인 요인, 특히 식환경(食環境)과 밀접한 관련을 가지는 것으로 알려져 있다<sup>(2-6)</sup>.

대두(*Glycine max L.*)는 발효제품(된장, 청국장, 간장)뿐만 아니라 가공제품(두유, 두부, 식용유)등 일상식품으로 우리나라에서 널리 애용된다. 대두는 식환경과 밀접한 관련을 가지는 성인병(암, 동맥경화등) 예방이 가능한 다양한 활성 물질을 포함하고 있으며, 이러한 대두식품의 생리활성 성분을 활용하여 각종 성인병 예방을 위한 기능성 식품소재의 개발이 가능할 것으로 기대되고 있다.

다양한 생리활성물질을 포함하고 있는 대두성분 중에서 항동맥경화 활성을 나타내는 성분으로는 saponin, phytic acid, fiber, genestein, 난소화성 단백질 등을 들 수 있으며, 이들은 담즙산 배설 증가, 콜레스테롤 대사 조

Corresponding author: Rina Yu, Department of Food and Nutrition, University of Ulsan, Mugeo-dong, Nam-ku, Ulsan 680-749, Korea.

질, 내분비계 조절작용 등을 통해 혈중 지질 특히 혈중 콜레스테롤 수준을 저하시켜 항동맥경화 활성을 나타낸다<sup>(7-10)</sup>. 예를 들면, 대두의 saponin, fiber, 난소화성 단백질은 담즙산 배설을 증가시킴으로서 혈중 콜레스테롤 수준을 낮추는 효과가 있다<sup>(8)</sup>. Genestein의 철소판 응고 저해작용도 항동맥경화 활성화와 관련이 있다<sup>(9)</sup>. Phytic acid는 혈중 Zn/Cu비를 변화시키거나, 또는 Fe의 흡수 저해작용을 통해 지질 및 단백질의 산화적 손상을 방지하여 동맥경화의 발생을 지연시킬 가능성이 제시되어 있다<sup>(10)</sup>. 대두성분의 항산화성도 항동맥경화 활성화 발현에 기여할 가능성이 높다. 본 연구의 선행연구결과에서는, 된장유래 펩타이드인 His-His-Leu이 *in vitro* 및 *in vivo*에서 ACE 저해활성 및 혈압강하효과를 나타내며<sup>(11,12)</sup>, 나아가, 대두가수분해물 유래 UF-peptide의 투여는 자발성 고혈압 흰쥐의 혈압을 낮추는 항고혈압활성을 나타내는 것이 확인되어 있다<sup>(13)</sup>.

본 연구에서는 대두가수분해물 유래 펩타이드(SoyPep)가 항동맥경화 활성을 나타내는 기능성 펩타이드로서 활용이 가능한지를 검토하기 위해, *in vivo*에서 자발성 고혈압 흰쥐 (spontaneously hypertensive rat, SHR)의 혈중 지질수준, 관련효소활성, 항산화비타민 수준에 미치는 영향을 중심으로 조사하였다. 또한, SHR의 주요장기조직의 형태학적 병변 현상 여부를 관찰하는 등 SoyPep의 안전성에 대해서도 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물 및 사료조제

SHR(6주령) 수컷을 울산대학교 의과대학 실험동물실로부터 분양받아, 수축기혈압(systolic blood pressure, SBP)이 145 mmHg 이상인 SHR을 사용하였다. 동물을 시판사료(삼양사)로 예비사육한 후 무작위로 군당 6마리씩 대조군, 3% SoyPep 투여군, 10% SoyPep 투여군의 3군으로 분류하여 8주간 사육하였다. SoyPep 식이 조제시에는 AIN-76 기본 식이를 사용하였다. AIN-76 사료성분은 100 g당 cornstarch 52 g, casein 20 g, dextrose 13 g, com oil 5 g, cellulose 5 g, methionine 0.3 g, choline bitartrate 0.2 g, vitamin mix 1 g, mineral mix 3.5 g을 함유하였다. SoyPep중의 조단백질, 조지질, 당질, 조회분 함량을 측정하여 그에 상응하는 양을 AIN-76 식이에서 제외시킨 후, 충분히 혼합하여 실험에 사용하였다. 실험기간 중 먹이와 물을 자유섭취케 하였고, 3-4일마다 체중을 측정하며 동물의 외관, 행동 및 증상을 관찰하였다.

실험식이에 첨가한 SoyPep 제조는 다음과 같다. 대두

단백질을 endopeptidase로 pH 8.0, 60°C에서 2시간, exopeptidase로 pH 5.0, 55°C에서 4시간, 그리고 계속해서 amylase와 exopeptidase로 12시간 가수분해한 후 한 외여과하였으며, 이 여과물을 분무건조한 것을 식이 SoyPep으로 사용하였다. SoyPep의 조성은 수분 4.91%, 조단백질 44.44%, 조지방 5.34%, 탄수화물 30.57%, 조회분 14.74%, 조섬유 0.11%였다.

### 생화학적 검사 및 조직중 angiotensin 1-converting enzyme(ACE) 조효소액 조제

실험동물은 실험기간 종료 전날에 절식시켰으며, 실험종료일 오전 11:00부터 채혈 및 각 주요 장기를 적출하였다. 헤파린으로 전처리한 혈액을 원심분리(3,000 rpm, 10 min)하여 혈장을 얻었고, 시판 kit(아산제약)로 glutamate oxaloacetate transaminase(GOT) 및 glutamate pyruvate transaminase(GPT), 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤, 중성지질을 측정하였고, Iatron kit(Iatron Ltd., Japan)로 인지질을 측정하였다<sup>(14-16)</sup>. 동맥경화지수(atherosclerotic index : AI index)는 총콜레스테롤에서 HDL-콜레스테롤의 수치를 감하여 얻은 LDL-콜레스테롤 수치를 HDL-콜레스테롤 수치로 나누어 산출하였다.

흉부 대동맥 또는 신장을 적출하여, 0.9% 생리식염수로 세척하였다. 조직을 세분한 후 homogenize(1,300 rpm, 3 min)하여 원심분리(3,500 rpm, 20 min, 4°C)한 후 그 상층액 중의 ACE 활성을 측정하였다<sup>(17)</sup>.

### 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase(HMG-CoA reductase) 효소원 조제 및 활성측정

간장 조직 4 g을 취하여 buffer A(인산완충용액, pH 7.0, 50 mM, sucrose 0.2 M, dithiothreitol 2 mM) 40 mL을 넣고 homogenize 한 후, 원심분리(15,000 rpm, 10 min, 4°C)하였다. 원심분리한 상등액에서 흰색의 지방층을 가제와 면봉으로 제거하고, 다시 초원심분리(40,000 rpm, 75 min, 4°C)하여 얻은 pellet에 buffer A를 넣어 잘 분산시키고 다시 초원심분리(40,000 rpm, 60 min, 4°C)를 하여 microsome pellet을 얻고, 여기에 소량의 suspension buffer(buffer A+50 mM EDTA, pH 7.0)를 넣고, BCA 법으로 단백질을 정량한 후, HMG-CoA reductase 효소원으로 이용하였다.

HMG-CoA reductase 활성은 반응용액중의  $[3-^{14}C]$  HMG-CoA가 mevalonate로 전환되는 양으로 측정하였다<sup>(18)</sup>. 반응용액은 총 35  $\mu$ L로, 인산완충용액(0.5 M, PH 7.0, 11  $\mu$ L), NADPH(0.1 M, 2  $\mu$ L), HMG-CoA (cold, 3 mM, 4  $\mu$ L),  $[3-^{14}C]$ HMG-CoA(hot, 0.02 mCi, 3  $\mu$ L), microsome 조효소액(20 mg/mL, 10  $\mu$ L)을 포함하고 있

다. 이 반응용액을 37°C에서 30분간 반응시킨 후 6 N HCl 5μL 를 가하여 반응을 정지하고, 생성물인 mevalonic-lactone의 형성을 위해 다시 37°C에서 30분간 반응시킨다. 이 반응액을 원심분리(10,000 rpm, 5 min)하여 얻은 상등액으로 TLC 를 수행하였다. Silica gel G plate(20 × 10 cm)에 시료를 점적한후, benzene : acetone (1 : 1, v/v)으로 전개시키고 생성물을 요오드 증기 또는 image analyzer로 확인한 후, 방사능 활성을 측정하였다. HMG-CoA reductase 활성은 mevalonic acid pmole/min/mg protein으로 구하였다.

지질의 과산화도 측정

혈장중의 과산화지질 분석은 thiobarbituric acid (TBA)와 반응하는 malondialdehyde(MDA)를 butanol/pyridine(15/1, v/v) 용매로 추출하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였으며<sup>30)</sup>, 이때 표준품은 1,1,3,3-tetraethoxypropane을 사용하였다. BCA의 방법<sup>31)</sup>으로 protein assay 를 실시하여, 지질의 과산화의 정도를 MDA nmol /mg protein으로 나타내었다.

장기중량 측정 및 조직병리학적 검사

각 주요 장기조직, 즉, 간, 심장, 신장, 부신, 폐 등을 적출하여 생리식염수로 세정후 중량을 측정하여 체중에 대한 상대 중량비(%)를 구하였다. 한편, 심장, 신장 및 뇌는 중성 완충 포름알데히드액으로 고정된 후 기존의 방법에 따라 헤마톡신-에오신 염색을 하여 병리학적 검사를 하였다<sup>19)</sup>. 광학현미경을 위한 표본을 제작하기 위해서 가벼운 ether 마취하에서 채혈을 실시한 후 심장, 간장, 신장, 부신을 적출하여 즉시 10% neutral buffered formalin(NBF) 고정액에서 48시간 동안 고정된 후 일정한 수세 및 통상 방법에 따라 알콜탈수과정을 거쳐 파라핀으로 포매하였다. 포매된 조직은 박절편기(Reight-Jung, Germany)를 이용하여 5 μm 두께의 연속절편을 작성하여 hematoxylin & eosin(H-E) 염색을 시행한 다음 permount로 봉입하여 영구표본을 작성하였다.

혈장중 항산화 비타민 측정

혈장 retinol과 alpha-tocopherol 수준은 high-performance liquid chromatography(HPLC, Waters사)를 사용하여 정량분석하였다<sup>20)</sup>. HPLC 분석조건은 다음과 같다. 칼럼은 MicroBondapak C<sub>18</sub>(3.9 mm i.d. x 300 mm, waters사)을 사용하였고, methanol : H<sub>2</sub>O(97 : 3, v/v)을 이동상으로 하여 UV 292 nm에서 검출하였다.

통계처리

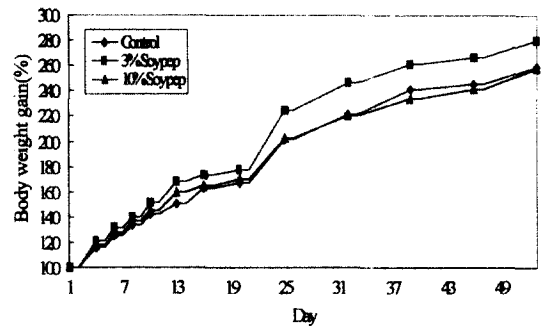


Fig. 1. Effect of SoyPep on the change of body weight gain in SHR. SEM was less than 10% and was omitted for clarity. SHR received the experimental diets containing 0 (control), 3%, 10% soybean hydrolysate.

측정값은 평균±표준오차로 나타냈고, ANOVA 및 Student's t-test 로 유의차 검정을 하였다.

결과 및 고찰

대두가수분해물 유래 펩타이드 SoyPep의 기능성 식품소재로서의 활용 가능성을 검토하기 위해, 식이 SoyPep 투여가 *in vivo*에서 SHR의 혈중 지질수준, 관련 효소활성 및 항산화성 비타민 수준에 미치는 영향을 조사하였다. 또한, 식이 SoyPep투여에 따른 SHR의 주요장기조직의 조직병리학적 변화를 검토하였다.

Fig. 1에 실험기간 중의 SHR의 체중변화를 나타냈다. 대조군과 10% SoyPep 투여군간에는 실험 전 기간에 걸쳐서 체중변화의 차이가 없었으며, 대조군에 비해 3% SoyPep 투여군에서 체중증가 경향이 관찰되었으나 통계학적인 유의성은 없었다. 실험기간 중 각 군의 일일 먹이 섭취량은 통계적인 유의성은 없었으나 SoyPep투여군이 약간 높은 경향을 보였다(Table 1). 체중에 대한 장기중량 %를 조사한 결과, 각 군사이에 중량비의 차이는 없었으며(Table 2), 일반적으로 독성물질의 연속투여시 관찰되는 간장 비대등 장기 비대현상은 관찰되지 않았다. 또한, SoyPep 투여에 따른 간장 GOT 및 GPT 효소 활성을 조사한 결과(Fig. 2), 각 군사이에 차이가 없었다. SoyPep의 식품첨가제로서의 활용을 위해서는

Table 1. Amounts of daily SoyPep intake in SHR

Group	Diet intake(g/rat/day)
Control	16.9 ± 1.88
3% SoyPep	17.7 ± 1.76
10% SoyPep	18.2 ± 0.29

\*Values are means ± SEM

**Table 2. Effect of dietary SoyPep on the relative weight of various organs in SHR**

Organ	Groups		
	Control (n=6)	3% SoyPep (n=6)	10% SoyPep(n=9) (g/100 g, B.W.)
Liver	4.13 ± 0.07	3.82 ± 0.14	4.11 ± 0.32
Kidney	0.66 ± 0.01	0.68 ± 0.02	0.73 ± 0.03
Heart	0.34 ± 0.01	0.38 ± 0.00	0.42 ± 0.04
Adrenal	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00
Spleen	0.18 ± 0.02	0.19 ± 0.01	0.20 ± 0.02

\* Values are means ± SEM

**Fig. 2. Effect of SoyPep diet on the plasma GOT and GPT activities in SHR.** Values are mean ± SEM. Abbreviations used: GOT, glutamate oxaloacetate transaminase; GPT, glutamate pyruvate transaminase.

그 안전성이 확인되어야 하는데, 후술하는 조직병리학적인 검토결과에서도 SoyPep 투여에 따른 병리현상이 관찰되지 않은 점등을 볼때, 본 실험결과는 SoyPep의 안전성이 매우 긍정적임을 시사하는 것으로 사료된다.

Fig. 3에 SoyPep 투여에 따른 SHR의 흉부대동맥, 신장, 혈장 중의 ACE 활성 변화를 조사한 결과를 나타냈다. 흉부대동맥의 ACE활성은 대조군에 비해 SoyPep투여군에서 유의적으로 낮았으며 ( $p < 0.01$ ), 3% SoyPep투여군에서 가장 낮았다. 신장 및 혈장 중의 ACE 활성도 대조군에 비해 SoyPep 투여군에서 낮은 경향을 보였다. 혈압의 상승과 유지에 중요한 작용을 담당하고 있는 효소인 angiotensin I 전환효소(ACE, EC 3.4.15.1)에 의해 생성되는 angiotensin II는 혈압을 상승시키는 작용을 할뿐만 아니라 LDL의 산화를 촉진시키거나 macrophage의 표면수용체에 결합하여 지질의 과산화를 증가시키므로 동맥경화의 발병율도 높인다<sup>(21)</sup>. 따라서, angiotensin II 수준 증가를 억제하거나 ACE에 대한 저해 활성은 항동맥경화활성을 나타내는 척도로서도 중요한 의미가 있다. 식품에서 분리한 단백질 중에는 카제인의 트립신 분해물, 정어리의 펩신 분해물, 발효유

**Fig. 3. Effect of SoyPep on the ACE activity in aorta, kidney, and plasma of SHR.** Data are expressed as the mean ± SEM. \*: Significantly different from control ( $p < 0.01$ ). Abbreviation used: ACE, angiotensin I-converting enzyme.

유래 펩타이드, 무화과 유액 유래 펩타이드, 미강의 펩신 분해물 유래 펩타이드 등이 *in vitro* 또는 *in vivo*에서 ACE 저해활성을 나타낸다고 알려져 있으며<sup>(22-25)</sup>, 이들 중 발효유 등은 *in vivo*에서의 항고혈압활성이 확인되어 있기도 하다<sup>(24)</sup>. 본 선행연구에서는 된장유래 펩타이드인 His-His-Leu이 *in vitro* 및 *in vivo*에서 ACE 저해 활성 및 혈압강하효과를 나타내며<sup>(12,13)</sup>, 나아가, 대두가 수분해물 유래 UF-peptide를 투여한 자발성고혈압 흰쥐의 혈압을 낮추는 항고혈압활성을 나타내는 것이 확인

**Fig. 4. Effect of SoyPep on the plasma lipid levels in SHR.** Values are mean  $\pm$  SEM. \*: Significantly different from control ( $p < 0.05$ ). Abbreviations used: TG, Triglyceride; To-Chol, Total cholesterol; HDL-Chol, high density lipoprotein-cholesterol; LDL-Chol, low density lipoprotein-cholesterol; PL, Phospholipid.

되어 있다<sup>(13)</sup>. 본 실험에서 관찰된 SoyPep에 의한 ACE 저해활성은 후술하고 있는 SoyPep의 혈중 지질개선작용과 함께 항동맥경화 활성에 기여하고 있을 것으로 사료된다.

Fig. 4에 SoyPep 투여가 SHR의 혈중지질수준에 미치는 영향을 나타냈다. SoyPep을 투여한 SHR의 혈중 중성지질은 대조군에 비해 낮은 경향이었고, LDL-콜레스테롤 수준은 대조군에 비해 유의적으로 낮았으며 ( $p < 0.01$ ), 총콜레스테롤 수준은 대조군과 유사한 수준에 있었다. 혈중 지질 수준을 근거로 동맥경화지수를 산출한 결과(Table 3), 대조군에 비해 3% 또는 10% SoyPep을 투여한 SHR의 경우 유의적으로 감소하였으며, SoyPep의 항동맥경화활성을 확인할 수 있었다. 대두 단백질은 LDL-receptor 활성을 증가시켜 총콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤 수준을 저하시킬 수 있다고 보고되어 있으며<sup>(26)</sup>, 또한, 이와같은 대두단백질의 혈중 콜레스테롤 및 지질수준 저하 작용은 지방대사 관련 유전자 발현 조절작용과도 관련되어 있을 가능성도 보고되어 있다<sup>(27)</sup>. 대두성분 가운데 특히 항동맥경화 활성을 나타내는 성분으로는 saponin, phytic acid, fiber, genes-teine, 난소화성 단백질 등을 들 수 있으며, 이들 성분들은 담즙

**Table 3. Effect of dietary SoyPep on the atherosclerotic index(AI) in SHR**

Group	AI value <sup>1)</sup>
Control	1.31 $\pm$ 0.29
3% SoyPep	0.70 $\pm$ 0.06*
10% SoyPep	0.65 $\pm$ 0.01*

Values are mean  $\pm$  SEM.

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

<sup>1)</sup> (Total cholesterol-HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol.

**Fig. 5. Effect of SoyPep on the HMG-Co A reductase activity in liver microsome of SHR.** Values are mean  $\pm$  SEM. Abbreviation used: HMG-CoA reductase, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase; Mev, mevalonic acid.

산 배설 증가, 콜레스테롤 대사 조절, 내분비계 조절작용 등을 통해 혈중 지질 특히 혈중 콜레스테롤 수준을 저하시켜 항동맥경화 활성을 나타낸다<sup>(7-10)</sup>. 본 연구에서 사용한 SoyPep 중에는 미량일 것으로 추정되기는 하나 이들 저분자물질들이 포함된 상태이며, 따라서 이들 저분자물질의 관여도 배제할 수는 없다. 한편, 대두단백질이 혈중 총콜레스테롤 저하작용을 한다는 기존의 연구보고와는 달리, SoyPep투여시 총콜레스테롤 수준의 차이가 관찰되지 않았던 배경을 조사하기 위해, 간 미크로솜 HMG-CoA reductase 활성을 조사한 결과, 대조군에 비해 SoyPep식이 투여군에서 효소활성의 증가가 확인되었다(Fig. 5). 담즙산 배설증가에 따른 콜레스테롤의 체외배출량 증가는 콜레스테롤 합성을 유도한다고 보고되어 있으며<sup>(10)</sup>, 본 실험에서 사용된 SoyPep 식이투여에 따른 HMG-CoA reductase 활성 증가는 총콜레스테롤 수준이 SoyPep 투여군과 대조군간에 차이가 없었던 것과 관련이 있을 것으로 사료된다.

SoyPep 투여에 따른 SHR의 각 주요장기 심장, 간장, 신장, 부신에서의 조직병리학적 변화는 인정되지 않았다(Fig. 6). 심장에서의 조직학적 변화로 좌심실의 심장속막(endocardium)은 대조군에 비하여 3%와 5%의 펩타이드 투여군에서 다소 확장되는 소견을 보였고, 심방과 심실사이에서는 결합조직이 풍부한 섬유돌레가 모든 군에서 확인되었으나, 심장근육층의 두께 등은 차이가

**Table 4. Effect of dietary SoyPep on plasma retinol and alpha-tocopherol contents in SHR**

Concentration (g/ml)	Experimental diet		
	0%(Control)	3% SoyPep	10% SoyPep
Retinol	1.47 $\pm$ 0.07	1.57 $\pm$ 0.04	1.45 $\pm$ 0.07
Alpha-tocopherol	14.3 $\pm$ 1.29	13.75 $\pm$ 0.74	14.88 $\pm$ 0.86

Values are mean  $\pm$  SEM.

**Fig. 6. Effect of dietary SoyPep on histopathological changes of various organs in SHR.** Abbreviations in figures : BV, Blood vessel; MC, Myocardium; CV, Central vein; S, Sinusoid; KC, Kupffer cell; EC, endothelial cell; LCP, Liver cell plate; RC, Renal corpuscle; MD, Macula densa; PL, parietal layer.  $\times 200$

없었다. 따라서, 전체적으로 심실에서 심장근육층의 변화가 인정되지는 않았으며 심실비대 등의 변화도 확인되지 않았다. 간장의 경우, 간실질의 소엽에서 중심정맥(central vein)을 둘러싸고 간세포판(liver cell plate), 동모양 혈관(sinusoid)의 형태 및 분포는 대조군과 실험군에서 주목할 만한 변화가 관찰되지 않았다. 아울러 내피세포(endothelial cell) 및 별모양대식세포(Kupffer cell)의 출현은 펩타이드 투여군에서 비특이적으로 다소 증가되는 양상을 보이기도 하였으나 뚜렷하지는 않았다. 신장은, 사구체 부위의 신장소체의 크기는 펩타이드 투여에 따라서 작아지고 위축되며 벽층층의 단면이 불규칙해지는 양상을 나타내었고, 15% 투여군에서는 근위 소관 및 원위 소관의 영역이 증가되어 나타났다. 치밀반(macula densa) 및 사구체결세포(juxtaglomerular cell) 등은 크기 및 형태에서는 펩타이드 투여로 인한 영향으로 인정할 만한 실험군간 유의한 변화를 관찰하지 못하였다. 부신의 피질부는 사구층(zona glomerulosa), 다발층(zona fasciculosa), 그물층(zona reticularis)으로 구분하여 관찰하였는데, 각 층에 따라서 뚜렷한 차이는 관찰되지 않았다. 아울러 펩타이드 투여군에서 전반적으로

**Fig. 7. Effect of dietary SoyPep on plasma lipid peroxidation in SHR.** Values are mean  $\pm$  SEM. Abbreviation used : MDA, malondialdehyde.

부신 수질 내분비 세포(medullar cell)의 밀집도가 증가되어 나타났으며 지방방울(lipid droplets)의 출현이 펩타이드 투여에 따라서 다소 증가되는 양상을 관찰하였으나 뚜렷한 병리학적 변화로 인정되지는 않았다.

대두성분중의 phenolic compounds 또는 isoflavonoid 등의 저분자 물질은 지질의 과산화를 억제하는 항산화 작용을 한다<sup>(28)</sup>. 최근에는, 대두 펩타이드의 항산화 활성에 대한 흥미로운 연구결과도 보고되어 있다. 예를

들면, 대두 단백질 유래 펩타이드중 Leu-Leu-Pro-His-His는 강력한 항산화 활성을 나타내며<sup>(29)</sup>, valine, leucine, isoleucine 등의 아미노산의 존재는 특히 항산화 활성과 관련이 있다<sup>(29)</sup>. 본 연구에서는 SoyPep 식이 투여가 체내 항산화성 비타민 수준에 영향을 미치는 영향을 조사한 결과, retinol과 alpha-tocopherol의 혈장 수준은 대조군과 SoyPep 투여군간에 차이가 없었으나(Table 3), 혈중지질의 과산화도는 대조군에 비해 SoyPep 투여군이 다소 낮은 경향을 보였으나 통계학적인 유의성은 인정되지 않았다(Fig. 7).

이들 결과를 종합해 볼 때, 분무건조한 대두 가수분해물인 SoyPep은 *in vivo*에서 혈중 중성지질, 총콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤 수준을 낮추는 등 혈중지질개선작용을 할수 있는 것으로 평가되었다. 또한 SoyPep 식이투여에 따른 간독성 및 조직병변 현상이 관찰되지 않았던 점은 SoyPep이 기능성 식품첨가제로서 활용 가능성을 시사하는 것으로 사료된다.

요 약

대두가수분해물 분무건조 펩타이드(SoyPep)가 자발성고혈압 흰쥐 (spontaneously hypertensive rat, SHR)의 혈중지질수준, 생화학적지표 및 조직병리학적 변화에 미치는 영향을 조사하였다. SHR을 무작위로 대조군, 3% SoyPep 투여군, 10% SoyPep 투여군으로 구분하여 8주동안 실험사육하였다. 혈중지질 및 항산화성 비타민 수준, GOT 및 GPT활성을 측정하였고, 신장, 혈관조직, 혈장중 ACE 활성을 측정하였다. 또한, 각 주요장기의 조직병리학적 변화를 검토하였다. 식이 SoyPep은 SHR의 혈중 중성지질, 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤을 저하시키며, 또한, ACE저해활성 및 혈중 지질 수준의 개선작용을 나타내는 것이 확인되었다. 이들 결과로 보아, 대두 펩타이드는 혈중 지질수준의 증가를 수반하는 질병의 예방을 위한 새로운 기능성 식품소재로서의 활용가치가 매우 높을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산부 특정과제에 의해 수행된 연구 결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Robert, I. Prevalence and epidemiology of cardiovascular disease. p. 155. In: Cecil Textbook of Medline.

Wyngaarden, J.B. and Smith, L.H. (eds.). 17th ed., Saunders Company, Philadelphia, PA, USA (1985)

2. Ulbright, T.L. and Southgate, D.A. Coronary heart disease: Seven dietary factors. *Lancet* 338: 985-992 (1991)

3. Bing, R.F., Thurston, H. and Swales, J.D. Salt intake and diuretic treatment of hypertension. *Lancet* 2: 121-123 (1979)

4. Blaustein, M.P. Sodium transport and hypertension, Where are you going? *Hypertension* 6: 445-453 (1984)

5. Yamori, Y., Kihara, M., Nara, Y., Ohtata, M., Horie, R., Tsunematsu, T. and Note, S. Hypertension and diet: Multiple regression analysis in a Japanese farming community. *Lancet* 1: 1204-1205 (1981)

6. Fries, E.D. Age, race, sex and other indices of risk of hypertension, *Am. J. Med.* 55: 275-280 (1973)

7. Iwami, K., Sakakibara, K. and Ibuki, F. Involvement of post-digestion hydrophobic peptides in plasma cholesterol-lowering effect of dietary plant proteins. *Agri. Biol. Chem.* 50: 1217-1222 (1986)

8. Sugano, M., Goto, S., Yamada, Y., Yoshida, K., Hashimoto, Y., Matsuo, T. and Kimoto, M. Cholesterol-lowering activity of various undigested fraction of soybean protein in rats. *J. Nutr.* 120: 977-985 (1989)

9. Akiyama, T., Isguda, J., Nakayama, S., Ogawara, H., Watanabe, S., Itoh, N., Shibuya, M., and Fuani, Y. Genistein: A specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinase. *J. Biol. Chem.* 262: 5592-5595 (1987)

10. Potter, S.M. Overview of proposed mechanism for the hypocholesterolemic effect of soy. *J. Nutr.* 125: 606S-611S (1995)

11. Shin, J.I., Ahan, C.W., Park, S.A., Yu, R., Chung, D. K., Nam, H.S. and Lee, H.J. His-His-Leu, an angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptide derived from a Korean fermented soybean paste exerts antihypertensive activity *in vivo*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, in submission (1999)

12. Shin, J.I., Ahn, S.W., Ahn, C.W., Nam, H.S. and Lee, H.J. Angiotensin I converting enzyme inhibitor derived from fermented soybean paste and enzymatic soybean hydrolyzed. *Proceedings of IUFOST '96 Regional Symposium*, p. 265 (1996)

13. Yu, R., Park, S.A., Chung, D.K., Nam, H.S. and Shin, J.I. Effect of soybean hydrolysate on hypertension in spontaneously hypertensive rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 25: 1031-1036 (1996)

14. Reitman, S. and Frankel, S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin Pathol.* 28: 56 (1957)

15. Sardesai, V.M. and Manning, J.A. The determination of triglyceride in plasma and tissues. *Clin. Chem.* 14: 156-162 (1968)

16. Pearson, S., Stern, S. and MaGarack, T.H. A rapid accurate method for the determination of total cholesterol and serum. *Anal. Chem.* 25: 813-816 (1953)

17. Cushman, D.W. and Cheung, H.S. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharm.* 20: 1637- 1648 (1971)
18. Kleinsek, D.A., Dugan, R.E., Baker, T.A. and Porter, J. W. 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase from rat liver. *Methods Enzymol.* 71: 462-479 (1981)
19. Bernirschke, K., Garner, F. M. and Jones, T. C. *Pathology of Laboratory Animals.* Springer-Verlag, New York, USA (1978)
20. Yu, R., Kim, J.M., Han, I.S., kim, B.S., Lee, S.H., Kim, M. and Cho, S.H. Effects of hot taste preference on food intake pattern, serum lipid and antioxidative vitamin levels in Korean college students. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 25: 338-345 (1996)
21. Keidar, S. Angiotensin, LDL peroxidation and atherosclerosis. *Life Science* 63: 1-11 (1998)
22. Ariyoshi, Y. Angiotensin-converting enzyme inhibitor derived from food proteins. *Trends in Food Science & Technology* 4: 139-144 (1993)
23. Maruyama, S. and Suzuki, H. A peptide inhibitor of angiotensin I converting enzyme in the tryptic hydrolysate of casein. *Agric. Biol. Chem.* 46: 1393-1397 (1982)
24. Karaki, H., Doi, K., Sugano, S., Uchiwa, H., Sugai, R., Murakami, U. and Takemoto, S. Antihypertensive effect of tryptic hydrolysate of milk casein in spontaneously hypertensive rats. *Comp. Biochem. Physiol.* 96C, 367-371 (1990)
25. Otsuka, M. and Kubo, T. Action of a Shiitake(*Lentinus edodes*)-fructo-oligosaccharide mixture on hypertension in rats. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* 48: 109-114 (1995)
26. Lovati, M.R., Manzoni, C., Canavesi, A., Sirtori, M., Vaccarino, V., Marchi, M., Gaddi, G. and Sitori, C.R. Soybean protein diet increases low density lipoprotein receptor activity in mononuclear cells from hypercholesterolemic patients. *J. Clin. Invest.* 80: 1498-1502 (1987)
27. Iritani, N., Hosomi, H., Fukuda, H., Tada, K. and Ikeda, H. Soybean protein suppresses hepatic lipogenic enzyme gene expression in wistar fatty rats. *J. Nutr.* 126: 380-388 (1996)
28. Bae, E.A., Kwon, T.W. and Moon, G.S. Isoflavon contents and antioxidative effects of soybeans, soybean curd and their by-products. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 26: 371 (1997)
29. Muramoto, K. Antioxidative property of soybean peptide, *Nippon Shokhin Kagaku Kogaku Kaishi* 40(6): 69-79 (1997)
30. Ohkawa, H., Ohnishi, N. and Yagi, K. Assay for lipid peroxides for animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351-358 (1979)
31. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.I. and Randall, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275 (1951)

---

(1999년 3월 16일 접수)