

· 综述 ·

动物营养中寡肽的研究进展^①

冯秀燕^② 马秋刚 计成
(中国农业大学动物科技学院)

摘要 蛋白质水解产物中的小肽具有明显的吸收优势。关于小肽吸收、代谢的特点及意义的研究已广泛开展,本文就寡肽的研究现状及营养意义作一概要综述。

关键词 小肽; 吸收; 代谢; 蛋白质代谢; 氨基酸利用率
分类号 S816.4

Oligopeptide Advancement in Animal Nutrition

Feng Xiuyan Ma Qiugang Ji Cheng
(College of Animal Science, CAU)

Abstract Small peptides in protein hydrates have apparent advantages in absorption, many studies were conducted about the characters and significance of small peptide absorption and metabolism. In this paper, recent development in the researches regarding the small peptides and their nutritional importance are reviewed.

Key words small peptide; absorption; metabolism; protein metabolism; AA utilize ratio

蛋白质营养对动物健康的重要性在本世纪之前就已得到认识。本世纪以来,其许多理论已经得到发展,并被检验修正。在不断的研究中,人们开始更加深刻理解蛋白质营养是建立在可利用氨基酸的基础上的,并且现已证明大量氨基酸是以小肽(小肽即指由2~6个氨基酸组成的寡肽)形式被吸收的。人们对这一理论的接受经历了很长时间,而这一发现对建立新的蛋白质营养体系可能具有重要的意义。小肽的吸收机制、代谢机制及组织对小肽的利用情况是研究小肽对蛋白质营养作用的重要领域,本文主要总结了国内外对小肽在这些方面的研究。

1 小肽的吸收

关于小肽的吸收已积累了相当多的证据,随着在这一领域知识的不断增加,小肽吸收的营养及代谢意义仍未得到充分理解,关于肌肉、乳腺、肝脏、肾脏、小肠粘膜和其他组织的一些研究已经表明,这些组织有利用小肽提供氨基酸来满足细胞需要的作用。研究表明:反刍动物微生物能生产大量小肽作为它们对日粮蛋白的水解产物,但小肽被完整吸收进入血液的程度还是有争议的。不一致的原因可能是分析程序不同,动物种类不同或二者都不同。小肽吸收对反刍动物可能是一个重要的生理过程,它可能包含了可吸收氨基酸的主要部分。有观察表明:胃肠消化道的胃区可能是小肽吸收的重要部位,这对反刍动物具有很大的意义。

收稿日期: 1999-05-31

①中华农业科教基金-人才基金项目 98-03-A

②冯秀燕,北京圆明园西路2号中国农业大学(西校区),100094

小肽和氨基酸的运输是涉及2种不同载体的相互独立的生理过程,二者都是以主动运输的形式吸收,但是驱动力不同。小肽是一个依 H^+ 浓度、 Ca^{2+} 浓度、电导和耗能的独立过程^[1]。小肽转运系统具有转运速度快、耗能低,且不易饱和等特点^[2],肽中氨基酸残基吸收速度大于等量游离氨基酸吸收速度;而且肽吸收可避免氨基酸之间的吸收竞争。含肽键氨基酸在反刍动物血浆氨基酸库中占52%~78%,在人体中占10%,在豚鼠中占11%~14%。当考虑到整个胃肠道对小肽的吸收时,应主要考虑小肽的吸收机制。蛋白质在较前部位的胃肠道可被降解成肽和一些小肽和氨基酸的混合物,这种降解是由于胰脏分泌的蛋白水解酶和肠粘膜细胞中附着的小肽酶引起的。然而,瘤胃中在大量生产小肽后不能进行进一步水解还是一个新概念。

早期报道暗示完整小肽可被吸收进入血液。对几种二肽研究表明,只有一种甘氨酸——甘氨酸——出现在鼠小肠外翻的肠囊粘膜。完整小肽可以从胃肠道直接吸收进入血中这一现象的许多意义还不知道。关于这个问题至少有2个主要原因。首先,没有可行性的方法来测定和鉴定体液中的小肽数量。当有大量不同的小肽,而且每种小肽都是少量存在时,这尤其非常困难。现已存在许多色谱法程序对小肽进行分离、鉴定。但是,这些方法中没有一种能够同时分离液体中存在的大量的小肽(20种氨基酸大约有400种二肽,8000种三肽)。第二个问题是动物种类差别。实验室研究小肽运输所应用主要动物类型是鼠类,反刍动物及人。某些动物拥有特殊的解剖学特征和突起导致小肽能更多地吸收,包括进入血液中的大部分小肽的吸收。这尤其对于有微生物发酵的反刍动物是消化过程的主要部分^[3]。

2 体组织对小肽的利用

小肽的组成影响反刍动物瘤胃细菌对它的利用效率。用酪蛋白作底物,培养瘤胃细菌的混合物,结果酪蛋白被细菌降解成小肽。在猪十二指肠灌注肽实验中发现,除蛋氨酸外,肝门静脉中氨基酸的出现都比灌注相应氨基酸混合物更早,吸收峰更高。一些研究者通过间接的试验结果分析,认为循环中肽的重要来源可能是食物中的肽,循环中肽量的变化与底物中某些肽的完整吸收有关。当饲喂常规日粮或纯化日粮时,人们发现牛的血液中都存在着高浓度的循环肽^[4]。在前一种情况下,循环肽于后肢处被组织利用,而在后一种情况下,循环肽在后肢处基本没有变化。当以大豆蛋白作为日粮中氮的来源时,循环中的小肽氨基酸在牛的血浆中高浓度出现,小肽在后肢处被组织利用,从而从血浆中消失;而当以尿素作为日粮中氮的来源时,肽在此处基本没有变化。即日粮水平可以影响组织对肽的利用。有实验通过灌注BH(血浆蛋白水解物)发现,血浆中许多与BH中肽相同的肽峰面积增加,灌注物BH是血浆经胰酶和肠道混合肽酶充分水解的产物,其中的肽可能大多具有抗酶解能力,肠、体组织的代谢还可引起循环中肽量的变化^[5]。因此,影响循环中肽量的因素不只是底物中的肽,而肠道或其他组织代谢可能也是循环中肽的重要来源。

间接证明来自谷胱甘肽(三肽)的氨基酸被奶牛乳腺应用,氨基酸可通过乳腺从血中吸收。其他研究已经表明乳蛋白的合成需要半胱氨酸,但不能由血中游离的半胱氨酸所满足。而来自谷胱甘肽的半胱氨酸可以提供所需的数量。之后对泌乳牛、生长牛和绵羊进行的系列研究,观察了肌肉或乳腺组织对小肽氨基酸的吸收,结果发现组织对氨基酸的需要与代谢密切相关,静脉注射的小肽从血浆中消失^[6]。注射放射性标记及抗水解的小肽,从血浆中消除时伴随着放射性元素、抗水解的完整小肽在肝组织、肌肉组织、肾脏、肺、脑、及胰脏组织中出现。这些结果表明小肽可作为自由氨基酸的来源而满足组织的需要。一些小肽可能对细胞增长及功能有不同

的调节作用。例如,甘氨酸-组氨酸-赖氨酸和甘氨酸-赖氨酸-组氨酸有延长正常肝细胞寿命和刺激增生性肝脏生长的作用^[7]。与自由氨基酸相比,一些含蛋氨酸的小肽通过培养的乳腺体分离出的组织促进了大量分泌蛋白的生成^[8],并且在脱盐胎牛血液存在情况下,培养的 C₂C₁₂ 生肌细胞和 MAC-T 乳腺上皮细胞合成更多的蛋白质^[9]。能使小肽中蛋氨酸易于利用的血浆因子可能是一种水解酶,脱盐的血浆存在有利于促进蛋白质的生长。然而,与其他种类动物的脱盐血浆相比,鸡脱盐血浆存在时,产生的蛋白质量最少,在成年鸡血浆中可能任何刺激氨基酸底物利用的因子含量都少。动物血浆含有水解酶从而使得氨基酸能从血浆小肽中释放出来,血浆肽酶有水解一些数量小肽的活性^[10]。但是不同种类动物血浆所含肽酶水解因子也不同,关于血浆因子提高小肽应用的性质尚需进一步研究。

灌注不同的小肽,如甘氨酸-L-亮氨酸和甘氨酸-甘氨酸,通过小鼠的离体的器官已经表明,小肽组成是决定小肽被组织利用速度的主要因素。肝脏,肾脏,肌肉和空肠中出现静脉灌注后消失甘氨酸-L-亮氨酸的 25%,24%,12%和 10%,甘氨酸-甘氨酸的 15%,37%,18%和 11%^[3]。某些氨基酸特殊的残留物如丙氨酸加速了肝脏对小肽的清除,这可能是肝粘膜水解酶对这些小肽亲和力较高的结果。通过向鼠的后肢灌注小肽,表明谷氨酸-L-亮氨酸的清除速度是甘氨酸-甘氨酸的 2 倍,胰岛素没有影响清除速度。

3 小肽的代谢及其影响因素

许多研究人员不加怀疑地认为血浆中游离氨基酸是组织获取营养的唯一来源,大量证据已经表明小肽可被许多组织有效利用。然而,什么生理因素影响这一过程或调节这些小肽的代谢仍有待进一步研究。在代谢过程中,小肽水解成氨基酸推动了小肽的应用,其中包括它们合成蛋白质。水解酶经常出现在细胞液中,并且经常与不同膜相联系,附着在膜上的肽酶在膜转运小肽之前或在转运小肽的过程中将小肽水解,而细胞液中的小肽酶水解细胞液中的小肽,水解酶活性的出现,不管是针对一般的小肽或特定的小肽,都表明了小肽应用的潜力。研究表明,小肽酶发生活性的位置使得研究人员能够精确指出小肽吸收的特定细胞类型或细胞器。在所有的细胞类型中,应用这一知识,控制向组织供应氨基酸或组织对氨基酸的代谢的方法可以得到进一步发展。

到目前为止,已有许多关于小肽从血中清除的报道。向鼠中静脉注射甘氨酸-L-甘氨酸和甘氨酸-甘氨酸,结果它们很快从血中消失。这些小肽不能在尿中、肌肉中、肝中、小肠粘膜或肾皮质中检测到;但是血液、肌肉、肝脏和肾中氨基酸的浓度升高了。血中氨基酸的出现可能是由于小肽在组织中水解而后又释放到细胞液中。因为这些小肽在组织中水解更集中^[11]。而在血中这些小肽的水解酶活性很小或没有活性,红细胞对小肽的吸收和代谢并不能解释任何一定数量小肽从血中的消失。给人静脉大量注射 L-丙氨酸-L-谷氨酸和谷氨酸-L-酪氨酸,小肽被清除的很快,这些小肽快速消失同时其组成氨基酸以同样的浓度在血中增长,血中出现少量但比较稳定的小肽。小肽酶的活性没有测定,然而,与其它的观察相结合,组成氨基酸在血中出现可能是在细胞中水解,而后水解得到的氨基酸释放入血中的结果,组织中小肽或组成小肽的氨基酸在这些研究中没有测定。

小肽的分子结构是调控它从血中消失速度的一个重要因素。给小鼠静脉注射几种独立的小肽,不同小肽的组成氨基酸在血中出现的速度不同^[12]。并且,当甘氨酸处于氮末端位置时,小肽对水解有更强的抵御能力,可能与将小肽从体循环中转移有关,将其在细胞内水解,并且

将其组成氨基酸以游离氨基酸的形式释放入体循环在身体任何部位应用。试验观察到甘氨酸-L-亮氨酸在鼠的体循环中以相当于丙氨酸-L-胱氨酸一半的速度水解时,也提出了甘氨酸的这种作用。但在2项其他的研究中,丙氨酸-L-谷氨酸和谷氨酸-L-酪氨酸以同样的速度水解,可知处于氮末端甘氨酸没有影响组织的水解速度。

通过向鼠的几种组织静脉灌注 $[^{14}\text{C}]$ 甘氨酸与 $[^{14}\text{C}]$ 甘氨酸-甘氨酸,结果其出现位置不同。在大多数的组织中,向非蛋白质部分或蛋白质部分引入 $[^{14}\text{C}]$ 在形式上是相似的。然而,更多来自甘氨酸-甘氨酸的标记物出现在肾脏和血浆中的非蛋白部分,较少标记物出现在组织中。在肌肉蛋白中很少有甘氨酸或甘氨酸-甘氨酸的标记物,二者的大部分标记物在胰蛋白质中,少部分在肝脏和肠粘膜的蛋白中。

70年代以来,对完整小肽的吸收的概念进行了很多研究。有试验通过收集分离小肠浆膜上的分泌物和灌注蛋白质的酶水解物,检测出浆膜表面分泌物中出现的氨基酸大约有1/3是小肽,并观察到灌注大豆蛋白或酪蛋白水解物导致浆膜表面出现小肽,但是灌注一部分乳清蛋白或从肌肉中收集的肠时,这种结果没有发生。这些结果后来被证实,即肠腔上酶的浓度影响浆膜表面小肽的出现^[13]。在这些研究中,小肽以提供氨基酸形式满足组织需要或涉及组织对小肽代谢的机制都没有阐明。然而很明显,组织有利用小肽的能力,而这些小肽可能是氨基酸的重要来源。

4 小肽对动物组织蛋白质代谢的影响

在机体组织蛋白质代谢中,游离氨基酸并非唯一的氮源,肽也是不可忽略的一部分。吸收进入循环中的肽,可以水解为游离氨基酸作为组织氨基酸的一种来源被组织利用^[14]。最近,应用同位素示踪技术,发现灌注的肽标记物能直接结合进入乳蛋白,表明组织本身就有直接利用肽中氨基酸的能力。此外,循环中的某些肽可能对蛋白质合成起着促进作用^[15]。由此可见,小肽在动物体内蛋白质周转代谢中的作用,不仅仅在于吸收上的优势,饲料蛋白质肽的释放与完整地吸收进入循环的肽也可能影响动物组织的蛋白质代谢。

日粮的氨基酸供给形式影响着动物体蛋白质的沉积。当以小肽形式作为氮源时,整体蛋白质沉积高于相应的氨基酸日粮或完整蛋白质日粮。肠道肽载体对含疏水性侧链体积较大的氨基酸肽,如含支链氨基酸、蛋氨酸、苯丙氨酸的肽的亲合力高,而这些氨基酸本身在组织蛋白质合成和降解的调控中起着重要作用。灌注寡肽使动物对亮氨酸迅速吸收,而且灌注寡肽后血浆的胰岛素浓度高于灌注游离氨基酸的动物。胰岛素本身参与蛋白质合成中肽链延长,而胰岛素本身又可能影响肽链延长的速度,增加肌肉的蛋白质合成^[16]。当以小肽的形式肠外供给手术病人谷氨酸时,能部分降低负氮平衡,防止肌肉氨基酸的损失,而游离氨基酸形式则否。无论是由肠道还是肠外供给谷氨酰氨肽,都可以提高机体的蛋白质合成,改善亮氨酸的平衡^[17]。因此,影响动物组织蛋白质合成降解的营养因素中,除氨基酸水平、某些特殊氨基酸外,小肽的数量种类及大小也是一重要因素。

在肠道组织的氨基酸利用及蛋白质代谢上,小肽与游离氨基酸作用不同。许多对短期饥饿或长期低能量、低蛋白营养状态下大鼠试验表明,不同分子形式氨基酸对动物肠粘膜形态结构、刷状缘膜、肽酶活性的影响不同。有试验观察到由肠道灌注小肽和游离氨基酸后,小肽组肠组织蛋白质合成率高于游离氨基酸组^[18]。另外,乳铁蛋白及其胃蛋白酶水解生成的肽有促进肠上皮细胞增殖的作用,乳铁蛋白可促进细胞增长。饲喂全植物性蛋白型与复合型日粮仔猪肠

道发生了不同变化,肽的释放、吸收,对肠细胞氨基酸的营养供给、组织蛋白质的代谢可能是十分重要的。

有试验通过肝门静脉安装瘻管的方法,研究了甘氨酸-赖氨酸和这2种游离氨基酸混合物经小肠吸收后在肝门静脉的变化规律。结果表明,2种灌注物都使得内源氨基酸的吸收发生了不同程度的改变。小肠灌注游离甘氨酸和赖氨酸混合物后,明显降低了谷氨酸、缬氨酸和组氨酸在肝门静脉的出现量;而灌注了甘氨酸-赖氨酸二肽后,大多数氨基酸的吸收量都比对照组和甘氨酸与赖氨酸的混合物的吸收量高^[19]。氨基酸的吸收代谢是蛋白质代谢的一个重要部分,这个试验结果间接表明:小肽对蛋白质代谢有不可忽略的作用,探索寡肽代谢对氨基酸吸收代谢的影响规律,建立寡肽与氨基酸利用率的关系是可行的,并将进一步完善推进蛋白质营养理论。

5 结语

畜禽在采食动物性蛋白、脱脂乳、豆饼和玉米蛋白粉时,动物性蛋白和豆饼在肠道中形成的可溶性蛋白质(大分子肽,二肽和三肽)含量较高。饲喂植物性蛋白质饲料及氨基酸平衡差的饲料时空肠中不是以小肽,而是以游离氨基酸的形式吸收为主。在胃蛋白酶-胰蛋白酶作用下,动、植物蛋白饲料的肽释放量有显著差异^[20,21]。这些试验都直接或间接地证明了肽类在评定饲料可利用氨基酸中具有重要的意义。但是,如何利用在消化过程产生的肽种类、数量、比例,以及小肽不同于游离氨基酸吸收利用的特点对饲料中的可利用氨基酸进行重新评定,目前国内和国外均无此类研究。本实验室与德国 Hohenheim 大学动物营养研究所等国内外研究单位保持长期合作关系,并长期从事家禽蛋白质营养和氨基酸利用率研究,在对氨基酸利用率的研究过程中发现:给3~6周龄的肉仔鸡饲喂不同蛋白水平的日粮,并通过添加合成氨基酸来满足它们的需要,结果饲喂16%粗蛋白水平的家禽在生长速度和料重比方面都不如饲喂19%,20%,22%粗蛋白水平的家禽。对0~3周龄肉仔鸡的实验得出了相同的结论^[22]。由此我们提出寡肽对氨基酸利用具有重要作用。探讨寡肽吸收代谢及其作用形式为进一步发展蛋白质营养理论开辟了一条新的道路,也是动物营养学家所关心和探索的重要领域。

参 考 文 献

- 1 Ganapathy V, Mendicino J F, Leibach F H. Transport of glycyyl-L-proline into intestinal and renal brush-border vesicles from rabbit. *J Biol Chem*, 1981,256:118
- 2 Addison J M D, Matthews D M, et al. Evidence for active transport of the dipeptide glycylsarcosine by hamster jejunum *in vitro*. *Clin Sci*, 1972,43:907
- 3 Webb Jr K E. Intestinal absorption of protein hydrolysis products; a review. *J Anim Sci*, 1990,68: 3011~3022
- 4 McCormick M E, Webb Jr K E. Plasma free, erythrocyte free and plasma peptide amino acid exchange across the hindlimbs of calves in "steady state" and fasting metabolism. *J Nutr*, 1982,112:276
- 5 施用辉等. 雏鸡肠道底物肽与血液循环中肽关系的研究. *畜牧兽医学报*, 1998,29(2):105~111
- 6 Adibi S A. Experimental basis for use of peptides as substrates for parental nutrition; a review. *Metabolism*, 1987,36: 1001~1011
- 7 Pickart L, Thaler M M. Tripeptide in human serum which prolongs survival of normal liver. *Nature New*

- Biol, 1973,243:85~87
- 8 Wang S, Webb K E Jr, Akers, R. M. Peptide-bound methionine can be a source of methionine for the synthesis of secreted proteins by mamary tissue explants from lactating mice. J Nutr, 1996,126: 1662~1672
 - 9 Pan Y L, Bender P K, Akers R M, et al. Methionine-containing peptides can be used as methionine sources for protein accretion in cultured C₂C₁₂ and MAC-T cells. J Nutr, 1996,126: 232~241
 - 10 Lochs H, Williams P E, Morse E L. Metablism of dipeptides and their constitute amino acids by liver, gut, kidney and muscle. Am J Physiol, 1988,254: E588~E594
 - 11 Krzysysik B A, Adibi S A. Cytoplasmic dipeptide activities of kidney, ileum, jejunum, liver, mucle and blood. Am J Physiol, 1977,233: E450
 - 12 Adibi S A, Pleos G A, Morse E L. Influence of molecular structure on half-life and hydrolysis of dipeptide in plasma; importance of glycine as N-terminal amino acid residue. Metablism, 1986,35: 830~836
 - 13 Gardener M L G. Absorption of amino acids and peptides from a complex mixture in the isolated small intestine of the rat. J Physiol(Lond.), 1975, 253:233
 - 14 Adibi S A, Krzysysik B A. Metabolism of intravenously administered dipeptides in rats: effects on amino acid pools, glucose concentration and insulin and gluccogan secretion. Clin Sci Mo Med, 1977,52: 193
 - 15 Backwell F R C. Peptide utilization by tissues: Current status and applications of stable isolape. Poc Nutr Soc, 1994,53: 457~464
 - 16 Funabiki R, et al. *In vivo* effect of L-leucine administration on protein synthesis in mice. J Nutr Biochem, 1992,3:401~407
 - 17 Darmaun D, et al. Glutamine metablism in health adult men; respnse to enteral and intravenous feeding. Amer J Clin Nutr, 1994,59:1395~1402
 - 18 乐国伟. 酶解酪蛋白与相应氨基酸混合物对雏鸡组织蛋白质合成的影响. 畜牧兽医学报, 1998,29(1): 10~16
 - 19 赵昕红. 仔猪小肠对二肽的吸收特点. [博士论文]. 中国农业大学, 1998
 - 20 Asche G L. Protein digestion in wealting pigs: effects of dietary protein source. J Nutr, 1989,119:1093~1099
 - 21 Meister A, Tate S S. Glutathione and related gamma-glutamy compounds; Biosynthesis and utilization. Annu Rev Physiol, 1987,21:559
 - 22 Colnago G L, Penz Jr A M, Jensen L S. Effect of responses of starting broiler chicks to incremental reduction in intact protein on performance during the grower phase. Abster Soc Poul Sci, 1991,70(Suppl. 1)