

食源性DPP-IV抑制肽降血糖作用机制研究进展

赵嘉妮, 陈宏, 翁凌, 刘光明, 林家仕, 曹敏杰

Research Progress on the Mechanism of Food-derived DPP-IV Inhibitory Peptides for Hypoglycemic Effect

ZHAO Jiani, CHEN Hong, WENG Ling, LIU Guangming, LIN Jiashi, and CAO Minjie

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021010002>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

马氏珍珠贝来源DPP-IV抑制活性肽的虚拟筛选及其作用机制

Virtual Screening and Mechanism of Action of DPP-IV Inhibitory Peptides from *Pinctada fucata* (*P. fucata*)

食品工业科技. 2021, 42(16): 1-7

菊粉复配灵芝多糖对2型糖尿病大鼠的降血糖作用

Hypoglycemic Effect of Inulin Combined with *Ganoderma lucidum* Polysaccharides on Type 2 Diabetes Mellitus Rats

食品工业科技. 2019, 40(20): 310-315,324

植物源细菌群体感应抑制剂的研究进展

Research Progress on Bacteria Quorum Sensing Inhibitors of Plant-derived

食品工业科技. 2019, 40(21): 331-336

发芽糙米及其在糖尿病功能性食品中的应用进展

Research Development of Germinated Brown Rice as a Functional Food for Diabetes

食品工业科技. 2021, 42(10): 378-384

鲟鱼皮二肽基肽酶-IV抑制肽咀嚼片的制备工艺优化

Optimization of Preparation Technology of Sturgeon Skin Dipeptidyl Peptidase-IV Inhibitory Peptide Chewable Tablets

食品工业科技. 2021, 42(2): 177-184,191

代谢组学在个性化功能性食品研究中的应用

Applications of metabolomics method in the study of personalized functional food

食品工业科技. 2017(01): 386-390



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

赵嘉妮, 陈宏, 翁凌, 等. 食源性 DPP-IV 抑制肽降血糖作用机制研究进展 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(23): 447-454. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021010002

ZHAO Jiani, CHEN Hong, WENG Ling, et al. Research Progress on the Mechanism of Food-derived DPP-IV Inhibitory Peptides for Hypoglycemic Effect[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(23): 447-454. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021010002

食源性 DPP-IV 抑制肽降血糖作用 机制研究进展

赵嘉妮^{1,2}, 陈宏², 翁凌², 刘光明², 林家仕¹, 曹敏杰^{2,*}

(1.集美大学体育学院, 福建厦门 361021;

2.集美大学食品与生物工程学院, 福建厦门 361021)

摘要:随着全球糖尿病患者人数的逐年增加, 传统的药物治疗方法面临严峻挑战。研究发现, 饮食干预是辅助治疗糖尿病的一种有效手段。食物中的蛋白质经酶解后可产生多种生物活性肽。其中, 与糖尿病防治密切相关的二肽基肽酶-IV (Dipeptidyl peptidase-IV, DPP-IV) 抑制肽已从鱼类等多种食物的酶解液中被发现。海洋生物种类丰富, 是制备功能性食品的重要原料来源。本文综述了食源性 DPP-IV 抑制肽降糖的作用机制, 特别是海洋生物来源的 DPP-IV 抑制肽的研究进展, 旨在为开发基于 DPP-IV 抑制肽的功能性食品提供参考。

关键词: DPP-IV, 抑制剂, II-型糖尿病, 水产动物, 功能性食品

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)23-0447-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021010002



本文网刊:

Research Progress on the Mechanism of Food-derived DPP-IV Inhibitory Peptides for Hypoglycemic Effect

ZHAO Jiani^{1,2}, CHEN Hong², WENG Ling², LIU Guangming², LIN Jiashi¹, CAO Minjie^{2,*}

(1.College of Physical Education, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2.College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: With the annual increase of diabetes patients all around the world, traditional treatment methods are encountering challenges. Research has found that dietary intervention is an effective way of adjuvant treatment of diabetes. Proteins in food can produce various bioactive peptides after enzymatic hydrolysis. Among them, dipeptidyl peptidase-IV (DPP-IV) inhibitory peptides, which are closely related to the hypoglycemic effect have been identified in enzymatic hydrolysis of fish and other foods. Marine organism is rich in species and they are important resources for preparation of functional foods. In this manuscript, the hypoglycemic mechanism of food-derived DPP-IV inhibitory peptides and the research progress of DPP-IV inhibitory peptides derived from marine organism were reviewed, with a purpose to provide a reference for the development of functional foods based on DPP-IV inhibitory peptides.

Key words: Dipeptidyl peptidase-IV; inhibitor; type 2 diabetes mellitus; aquatic animals; functional foods

糖尿病(Diabetes mellitus, DM)是一种以慢性血糖水平增高为特征的代谢性疾病, 主要由胰岛素分泌和(或)作用缺陷所引起。近年来, 随着全球糖尿病患者数目不断攀升, 糖尿病及其并发症已成为重要的公共健康问题, 根据国际糖尿病联盟(The International Diabetes Federation, IDF)报告, 2019 年全球约有 4.63

亿人患糖尿病, 预计到 2030 年, 全球糖尿病患者将达到 5.78 亿, 到 2045 年, 将达到约 7 亿^[1-2]。II-型糖尿病(Type two diabetes mellitus, T2DM)是糖尿病的主要类型, 占糖尿病发病率的 90%~95%^[3], 主要表现为胰岛素抵抗和(或)胰岛 β 细胞受损。高体重指数 (Body mass index, BMI) 值、久坐不动的生活方式、

收稿日期: 2021-01-05

基金项目: “蓝色粮仓”国家重点研发计划项目 (2018YFD0901004)。

作者简介: 赵嘉妮 (1996-), 女, 硕士, 研究方向: 运动人体科学, E-mail: zjnzka@163.com。

* 通信作者: 曹敏杰 (1964-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 水产品深加工, E-mail: mjcao@jmu.edu.cn。

高热量饮食、衰老和遗传是增加其发病率的主要因素^[4-5]。糖尿病不仅损害全身多个器官,而且会引起多种并发症,包括肥胖、高血压、高胆固醇、心血管疾病和肾功能衰竭等,严重影响身体健康以及生活质量^[6]。因此,有效的治疗Ⅱ-型糖尿病的策略不仅要解决高血糖问题,还要防止疾病的进一步发展并预防其相关并发症^[7]。

二肽基肽酶-IV(Dipeptidyl peptidase-IV, DPP-IV)属于二肽基肽酶(Dipeptidyl peptidase, DPP)家族,是细胞表面的一种外切酶,在肾脏、肝脏、胰腺、胎盘、胸腺等处均有表达^[8]。作为一种外切酶,DPP-IV能特异性地从多肽和蛋白质的N端切去X-Pro、X-Ala二肽,并按Pro、Ala和Ser的优先顺序对其作为N端第二个氨基酸残基的多肽和蛋白质进行切割^[9]。胰高血糖素样肽-1(Glucagon-like peptide-1, GLP-1)和葡萄糖依赖性促胰岛素释放肽(Glucose-dependent insulintropic polypeptide, GIP)都是以葡萄糖依赖的方式刺激胰岛素分泌的肠促胰岛素,它们通过刺激胰岛素分泌和抑制胰高血糖素分泌发挥糖调节作用^[10-11]。作为DPP-IV的天然底物,GLP-1和GIP极易被DPP-IV降解而失去活性,从而失去降糖作用。抑制DPP-IV可防止80%~97%的GLP-1被降解,并将其半衰期延长至2~40 h^[12]。研究发现,DPP-IV抑制剂的最初作用可能是通过GLP-1介导的,当血糖控制开始得到改善,GIP的作用逐渐显现并进一步降血糖^[13]。因此,临床使用的抗糖尿病药物,如西格列汀(Sitagliptin)、利格列汀(Linagliptin)、沙格列汀(Saxagliptin)和阿格列汀(Alogliptin)等的作用机理都是通过抑制DPP-IV的活性而实现降血糖效果的^[12]。

目前,针对Ⅱ-型糖尿病的药物主要有磺脲类(Sulfonylureas, SUs)、噻唑烷二酮类(Thiazolidinediones, TZDs)、胰高血糖素样肽-1(Glucagon like peptide-1, GLP-1)受体激动剂、钠-葡萄糖共转运蛋白2(Sodium-glucose co-transporter 2, SGLT-2)抑制剂和二肽基肽酶(DPP-IV)抑制剂^[14-15]。由于DPP-IV抑制剂不仅可以有效降低血糖,且无低血糖风险,很多学者都将DPP-IV作为治疗Ⅱ-型糖尿病的靶点^[16-17]。在单用二甲双胍不能使血糖降到标准浓度的Ⅱ-型糖尿病患者中,DPP-IV抑制剂可以降低糖化血红蛋白(Glycated haemoglobin, HbA1c)水平^[18]。此外,作为肠促胰岛素类药物,DPP-IV抑制剂还可以口服给药,避免皮下注射^[12]。但是,关于DPP-IV抑制剂对心血管疾病、胰腺炎等影响的不确定性仍然存在^[16, 19-21]。美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)发现,使用高选择性的DPP-IV抑制剂——捷诺维(JANUVIA),即西格列汀片治疗的患者可能出现上呼吸道感染、鼻咽炎和头痛等不良反应。

人工合成的治疗糖尿病药物普遍存在一定的副

作用。实际上,除了药物控制,许多T2DM病例可以通过改变生活方式来预防,其中一项就是健康的饮食^[22]。与合成药物相比,功能性食品的副作用较小^[23]。因此,寻找天然、副作用小的功能性食品成为人们关注并不断努力的方向^[24]。本文综述了食品源,特别是水产动物食品源DPP-IV抑制肽的制备方法及其效果,以期能为功能性食品的开发提供一定的理论参考。

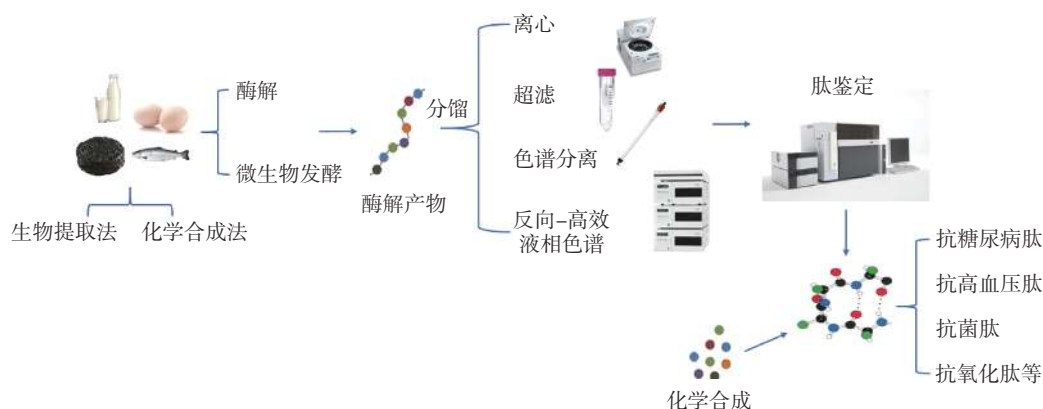
1 生物活性肽及其制备方法

生物活性肽是对身体功能或状况有积极影响并可能影响健康的特定蛋白质片段,它是由蛋白质经酶水解而成的分子量大小不一的多功能化合物^[25-26]。生物活性肽根据其序列不同,可表现出具有抗菌、抗血栓、抗高血压、抗氧化、抗糖尿病和免疫调节等功能^[26],甚至可能作为辅助性佐剂用于治疗/预防新型冠状病毒^[27]。

食源性生物活性肽是指来源于食物蛋白并经蛋白酶水解后获得的各种具有不同生物活性的肽片段,通常长度为2~20个氨基酸残基^[23]。现代营养学研究发现,膳食中的蛋白质经消化酶作用后,大多是以低聚肽形式吸收利用的,以游离氨基酸形式吸收的比例并不高,且肽比游离氨基酸更容易被吸收,表明肽的生物效价和营养价值比游离氨基酸更高^[28]。因此,生物活性肽被认为是新一代生物活性调节剂,用于各种疾病的预防与治疗,从而提高人们的生活质量。探索开发基于这些肽的新型食品添加剂或功能性食品已成为科学界和食品工业界的热门课题^[26]。

生物活性肽如抗高血压肽、抗氧化肽、抗糖尿病肽等的常见来源是乳制品、肉制品和谷类^[25, 29]。POWER等^[7]认为食物蛋白水解物可作为DPP-IV抑制肽的来源,用于预防Ⅱ-型糖尿病。NONGONIERMA等^[30]总结了50种对DPP-IV半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)值小于100 μmol/L的肽,其长度均在2~17个氨基酸残基之间。这些有效的DPP-IV抑制肽广泛来源于奶(牛、骆驼和马)、猪、鱼、小麦和大型藻类(棕榈藻)等食物蛋白。POWER等^[31]发现,乳清蛋白水解物可以抑制DPP-IV活性, UENISHI等^[32]从豪达奶酪的水溶性提取物中分离并最终合成对DPP-IV有抑制作用的肽LPQNIPPL,之后的小鼠动物实验进一步验证了该肽的效果。利用动物胶原蛋白制备的明胶富含Pro,其水解物同样有DPP-IV抑制活性。此外,豆类、藜麦、燕麦、苋菜等植物也是制备DPP-IV抑制肽的良好蛋白质来源^[33]。

制备生物活性肽的常用方法如图1所示,包括直接提取、食物蛋白的酶解、发酵或化学合成^[4, 34]。其中,用于酶解的蛋白酶通常包括中性蛋白酶、碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、风味蛋白酶、胃蛋白酶和胰蛋白酶等。蛋白酶水解可以单酶水解,也可以多种酶复合水解,但水解的条件(如温度、pH等)要进行优化以达到获得最佳产物的效果。对

图 1 生物活性肽的制备及分离和鉴定流程图^[4,34]Fig.1 Flow diagram for the preparation, separation and identification of bioactive peptides^[4,34]

蛋白进行酶解之后是活性肽的分离、测序和表征。分离是根据水解产物的性质和分子量等特性来进行的,常用的技术有:超滤、离子交换、亲和层析、凝胶过滤和反相高效液相色谱^[34]。肽鉴定和表征包括确定其氨基酸序列、分子量、细胞生物学和动物学试验。活性肽的抑制潜力通常用抑制百分比或 IC_{50} 来衡量。

2 DPP-IV 抑制剂(肽)的抗糖尿病机制

摄食特定的食物或食物成分与糖尿病发病率之间存在一定的相关性。合理的膳食可对 II -型糖尿病的防治起到重要作用,主要原因是食物中的蛋白组分经消化酶消化后具备抑制 DPP-IV 的能力,即食物组分经消化后产生具有抑制 DPP-IV 活性的肽^[33]。

2.1 抗糖尿病活性测定

分离得到的 DPP-IV 抑制肽的抗糖尿病活性测定一般分为体外测定和体内测定两个方面。体外研究通常使用纯化肽或合成肽对 DPP-IV 的抑制活性以及该肽在模拟胃肠液作用下的稳定性等指标来评估;体内研究则是以糖尿病大鼠或者人(受试者)为研究对象,通常采用口服给药的方法,检查所得产物的有效性^[4, 35]。在体内研究方面,ZHU 等^[36]开展了海洋鱼胶原蛋白肽对 T2DM 患者治疗作用的研究,共招募了 100 名糖尿病患者和 50 名健康对照者。糖尿病患者随机分为治疗组和对照组,治疗组患者连续 3 个月每天口服 13 g 胶原蛋白肽,对照组服用安慰剂。经过 3 个月的治疗,患者的空腹血糖、糖化血红蛋白、空腹血胰岛素、总甘油三酯等指标显著改善,表明海洋鱼胶原蛋白肽可以改善 T2DM 患者的糖脂代谢,并有助于控制高血糖^[36-37]。

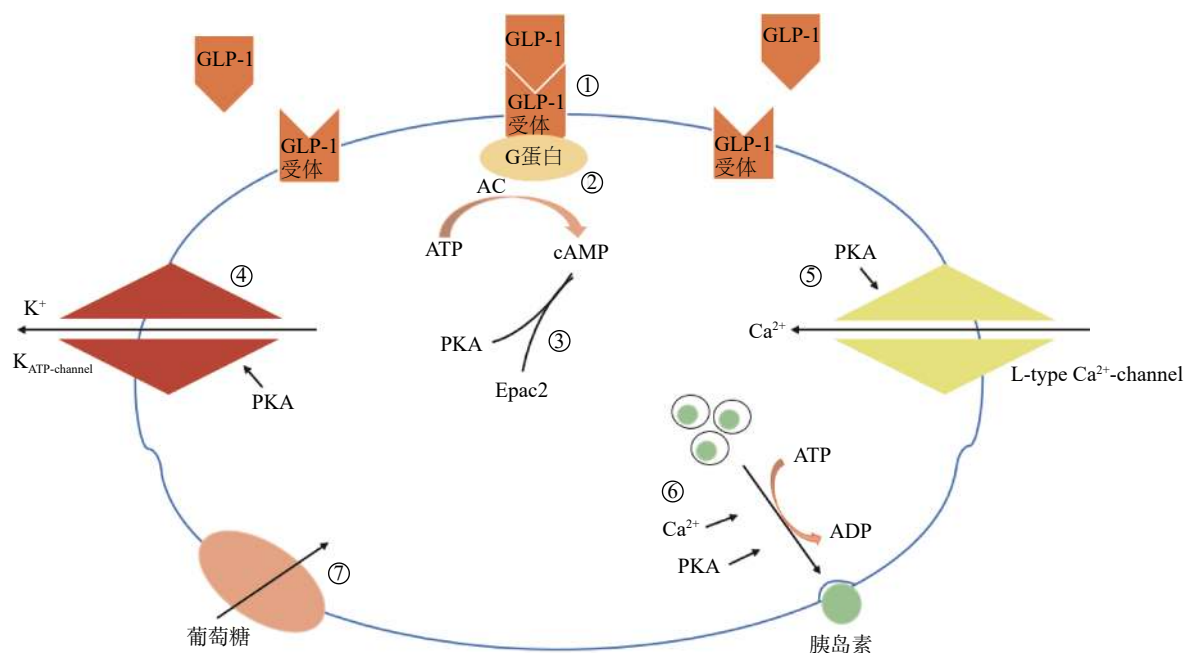
2.2 DPP-IV 抑制剂的作用机制

食物摄入体内以后,首先会引起肠促胰岛素的分泌增加,进而诱导胰岛素的分泌增加^[30]。GLP-1 促进胰岛素释放的作用机制如图 2 所示, GLP-1 以葡萄糖依赖性方式刺激胰岛素分泌^[38]。GLP-1 与 β 细胞表面的 GLP-1 受体结合,通过刺激 G 蛋白激活腺嘌呤核苷三磷酸(Adenosine triphosphate, ATP),

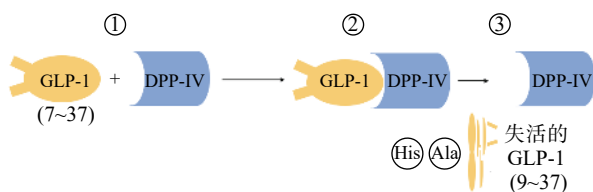
在腺苷酸环化酶(Adenylate cyclase, AC)的作用下形成环磷酸腺苷(Cyclic adenosine monophosphate, cAMP)。随后激活蛋白激酶 A (Protein kinase A, PKA) 和 cAMP 调节的鸟嘌呤核苷酸交换因子 II (cAMP-GEF II 或 Epac2),从而引发一系列级联效应,包括离子通道活性改变、细胞内 Ca^{2+} 浓度变化(Ca^{2+} 内流)和胰岛素颗粒的胞吐增强^[38]。GLP-1 对 β 细胞有营养作用,它不仅能促进 β 细胞增殖,而且也能增强胰管上皮中来自祖细胞的 β 细胞的分化, GLP-1 还可抑制 β 细胞的凋亡。所以,当细胞暴露在高血糖和高脂血症的毒性作用下, β 细胞凋亡增加时, GLP-1 可能会产生抑制凋亡的积极作用。此外, GLP-1 还能抑制胃肠道分泌和运动,尤其是胃排空,抑制食欲,从而减少食物摄入^[39]。

然而, GLP-1 是 DPP-IV 的天然底物,在人体内会被迅速降解(图 3),半衰期仅两分钟,极其短暂^[40]。GLP-1 可与 DPP-IV 的活性位点相结合形成 GLP-1 与 DPP-IV 复合物。复合物形成后,活性 GLP-1(7~37 位)的 N 端 2、3 位氨基酸(Ala 和 Glu)之间的肽键将被削弱,之后迅速被降解,失去活性的 GLP-1(9~37 位)从活性位点解离,进而导致其胰岛素活性丧失^[7, 40-41]。因此, DPP-IV 抑制剂可以保护肠促胰岛素不受酶的破坏,延长活性激素 GLP-1 的半衰期,从而起到控制血糖的作用。

DPP-IV 抑制剂的作用机制可分为竞争性抑制和非竞争性抑制,典型的竞争性酶抑制剂可与 DPP-IV 的天然底物竞争活性位点,但其存在剂量依赖性^[7]。研究发现,许多肽都是 DPP-IV 的竞争性抑制剂,尤其是含有 Pro 的肽,如 Ile-Pro^[42]。竞争性抑制的第二种作用机制涉及到酶-抑制剂复合物的形成,即底物样抑制剂结合到 DPP-IV 的活性位点形成酶-抑制剂复合物^[43]。与标准竞争性抑制剂相比,该抑制剂从活性位点解离的速度较慢,从而导致更长的 DPP-IV 抑制时间(如维格列汀)^[7]。非竞争性抑制剂可以与 DPP-IV 分子天然结构中的二级结合位点(如受体位点和底物识别位点)相互作用,这种结合改变了 DPP-IV 的底物特异性和催化活性^[7]。已证明较长的

图2 GLP-1 促进胰岛素释放作用机制^[38]Fig.2 The mechanism of GLP-1 promoting insulin release^[38]

注: ①GLP-1 与 GLP-1 受体结合, 刺激 G 蛋白; ②AC 被激活, 催化 ATP 转化为 cAMP; ③cAMP 激活 PKA 和 Epac2; ④ATP 敏感钾通道关闭, K^+ 外流; ⑤L-型钙通道通道(电压依赖性 Ca^{2+})打开, Ca^{2+} 内流; ⑥胰岛素颗粒通过胞吐出胞; ⑦葡萄糖被转运进入细胞; 以上步骤不按序号区分先后顺序。

图3 DPP-IV 降解 GLP-1 的机理^[7]Fig.3 Mechanism of GLP-1 degradation by DPP-IV^[7]

注: ①有活性的 GLP-1 将与 DPP-IV 结合; ②GLP-1 与 DPP-IV 结合; ③GLP-1 失去活性, 从 DPP-IV 上解离。

肽(30~50 个氨基酸)可作为非竞争性抑制剂, 其作用机理主要是通过二聚界面形成相互作用并阻止 DPP-IV 活性二聚体的形成^[44]。此外, 有研究表明这些肽也可以通过混合抑制模式发挥功能^[45]。

虽然蛋白肽发挥其抗糖尿病作用的机制尚未完全阐明, 但研究认为, 体内关键氨基酸的餐后变化是一个促成因素。其中, Gln、Ala、Arg、Leu、Phe、Val、Ile、Lys 等氨基酸具有较强的促胰岛素分泌活性; Glu、Ala、Ser、Gln、Gly、Asp、Leu、Met 等氨基酸能刺激肠细胞释放 GLP-1^[46]。

3 海洋生物来源的 DPP-IV 抑制肽

富含蛋白质的食物是生物活性肽的主要来源, 食物中的蛋白质经消化酶酶解后产生的肽具有多种生物活性, 有益于人体健康。海洋生物种类占全球物种的 80% 以上, 是食品和药品原料的重要来源, 被誉为“蓝色粮仓”。由于海洋生物自身生长环境的特殊性(高渗、高盐、低温和低氧), 它们的基因组、代谢规律, 及酶系途径等都与陆产动植物存在显著差别, 形成了一系列结构各异且品种繁多的天然产物。故来

源于海洋生物的蛋白质是制备 DPP-IV 抑制肽、改善 II-型糖尿病患者身体健康的重要资源^[47]。其中, 生物活性多肽是海洋活性物质中发现最多的化合物^[48]。大量研究表明, 从海洋生物中制备的多肽具有抗疲劳、抗氧化、提高免疫力、降血压和降血糖等功效^[49]。

HUANG 等^[35] 用蛋白酶 XXIII 和 orientase 90N 对金枪鱼蒸煮液进行酶解, 之后通过凝胶过滤色谱和高效液相色谱进一步分离, 最终鉴定并合成得到 3 个具有 DPP-IV 抑制活性的肽: PGVGGPLGPIG PCYE、CAYQWQRPVDRIR 和 PACGGFWISGR PG, 它们的 IC_{50} 值分别为 116.1、78.0 和 96.4 $\mu\text{mol/L}$ 。经过体外模拟胃肠液消化后, 这三个肽的 DPP-IV 抑制活性都有升高, 其中 PGVGGPLGPIGPCYE 和 CAYQWQRPVDRIR 的抑制活性显著升高。这说明经过消化后, 这两个肽形成了新的、分子量更小的具有 DPP-IV 抑制活性的肽, 且比原始肽具有更强的肠渗透力。

LI 等^[50] 通过碱性蛋白酶、风味蛋白酶以及菠萝蛋白酶对大西洋鲑鱼皮明胶进行酶解、分离、鉴定得到两种对 DPP-IV 有抑制作用的肽 GPAE(372.4 Da) 和 GPGE(300.4 Da)。这两种肽对 DPP-IV 的 IC_{50} 值分别为 49.6 和 41.9 $\mu\text{mol/L}$, 显示出很强的 DPP-IV 抑制活性, 这 2 种肽的 N 端第二个氨基酸均为 Pro。一般地, 具有 DPP-IV 抑制活性寡肽的 N 端第二个残基为 Pro、Trp、Ala、Val、Lys 和 Asp, 其中 Pro 是最优选的^[9]。DPP-IV 可以特异性地从肽的 N 端切割二肽 X-Pro 或 X-Ala。研究认为, N 端第二个氨基

酸为 Pro 的 DPP-IV 抑制肽, 由于其类似底物的性质, 可能以竞争性抑制的方式发挥作用^[51]。动物实验证明, 口服大西洋鲑鱼皮明胶水解物可以改善大鼠的口服糖耐量、抑制血浆 DPP-IV 活性、提高血浆 GLP-1 活性、增加胰岛素分泌、降低胰高血糖素水平^[37]。这表明大西洋鲑鱼皮明胶水解物不仅在体外有很强的 DPP-IV 抑制活性, 在糖尿病大鼠中也能表现出 DPP-IV 抑制活性, 显示出良好的降糖效果, 具有良好的应用前景, 有望进一步发展为治疗糖尿病的功能性食品。

HARNEDY 等^[46]研究表明, 用碱性蛋白酶和风味蛋白酶对鲑鱼明胶进行水解, 水解物在体外表现出显著的抗糖尿病(胰岛素、GLP-1 分泌和 DPP-IV 抑制)能力, 其中鲑鱼皮明胶水解物和鲑鱼碎屑水解物中均存在具有 DPP-IV 抑制活性的肽段。

WANG 等^[9]用风味蛋白酶分别酶解比目鱼和罗非鱼鱼皮明胶, 得到比目鱼皮水解物(halibut skin hydrolysate, HSGH)和罗非鱼皮明胶水解物(tilapia skin gelatin hydrolysate, TSGH)。动物实验表明, TSGH 对 DPP-IV 的抑制作用和对 GLP-1 分泌的促进作用均大于 HSGH, 血浆胰岛素水平同样显示出 TSGH 的优越性, TSGH 对糖尿病大鼠具有与西格列汀相同的抗高血糖作用, 且对正常大鼠没有降低血糖的副作用。之后将水解物进行超滤, 选择 DPP-IV 抑制活性较高的部分进行肽鉴定, 从 HSGH 中分离得到三种肽: SPGSSGPQGFTG、GPVGPAGNPGA

NGLN 和 PPGPTGPRGQPGNIGF, IC₅₀ 值分别为 101.6、81.3 和 146.7 μmol/L; 从 TSGH 中分离得到三种肽: IPGDPGPPGPPGP、LPGERGRPGAPGP 和 GPKGDRGLPGPPGRDGM, IC₅₀ 值分别为 65.4、76.8 和 89.6 μmol/L。TSGH 的抗糖效果好于 HSGH, 这可能是因为罗非鱼(温水鱼)皮水解产物中的亚氨基酸含量高于比目鱼(冷水鱼), 而 Pro 又是唯一的一个亚氨基酸, 这进一步说明了 Pro 在 DPP-IV 抑制肽中的重要性。

ZHANG 等^[51]研究了鲑鱼蛋白水解液的 DPP-IV 抑制活性, 发现中性蛋白酶水解液对 DPP-IV 的抑制作用最强。对蛋白酶水解液进行超滤、薄层色谱法(Thin-layer chromatography, TLC)、反相-高效液相色谱(Reversed-phase high performance liquid chromatography, RP-HPLC), 并从中分离鉴定出 4 个肽: AGPPGPSG、APGPAGP、LPIIDI 和 ALAPSTM, 其中 LPIIDI 和 APGPAGP 具有较强的 DPP-IV 抑制活性, 这 2 种肽均表现为竞争/非竞争混合型 DPP-IV 抑制模式。在鲑鱼肌肉中, 胶原蛋白虽然含量较低, 但由于其丰富的 Pro/Hyp 含量, 被认为是 DPP-IV 抑制肽的优良来源。这说明 DPP-IV 抑制肽的生物活性取决于蛋白质结构, 特别是不同水解产物中释放的肽的性质^[35, 50-51]。

HARNEDY 等^[52]用碱性蛋白酶和风味蛋白酶对蓝鳕肌肉蛋白进行水解, 水解物在体外显示出 DPP-IV 抑制作用, 同时还可刺激胰岛素分泌、增加

表 1 海洋动物来源的 DPP-IV 抑制肽
Table 1 Marine sources of DPP-IV inhibitory peptides

参考文献	来源	酶	分离方法	作用效果测定	序列/水解物	分子量(Da)	IC ₅₀ (μmol/L)
[35]	金枪鱼蒸煮液	蛋白酶XXIII orientase90N	凝胶过滤色谱HPLC	体外DPP-IV抑制活性	PGVGGPLGPIGPCYE	1412.7	116.1
					CAYQWQRPVDRIR	1690.8	78.0
					PACGGFWISGRPG	1304.6	96.4
[50]	大西洋鲑鱼皮	风味蛋白酶	超滤 HPLC	体外DPP-IV抑制活性	GPAE	372.4	49.6
					GPGA	300.4	41.9
[37]	大西洋鲑鱼皮	风味蛋白酶	—	动物实验(口服葡萄糖耐量、血浆DPP-IV活性、血浆GLP-1总体水平及活性、血浆胰岛素/胰高血糖素等)	大西洋鲑鱼皮水解物	—	—
[52]	蓝鳕	碱性蛋白酶 风味蛋白酶	—	体外DPP-IV抑制活性	蓝鳕肌肉蛋白水解物	—	—
				体外胰岛素分泌测定(BRIN-BD11)			
				体外GLP-1分泌测定(GLUTag)			
[51]	鲑鱼	中性蛋白酶	超滤 TLC RP-HPLC	—	LPIIDI	—	105.44
					LPGPAGP		
					AGPPGPSG		
[53]	南极磷虾	Corolase PP	超滤 凝胶过滤柱 阴离子交换柱 RP-HPLC	体外DPP-IV抑制活性	ALAPSTM	299.39	0.73 mg/mL 0.88 mg/mL
					KVEPLP		
					PAL		
[9]	大比目鱼皮明胶 罗非鱼皮明胶	风味蛋白酶	超滤	体外DPP-IV抑制活性	SPGSSGPQGFTG	862.32	101.6
				动物实验(血糖水平、口服葡萄糖耐量测试、血浆胰岛素水平、血浆DPP-IV及GLP-1活性测定)	GPVGPAGNPGANGLN	1021.42	81.3
					PPGPTGPRGQPGNIGF	1261.44	146.7
					IPGDPGPPGPPGP	919.53	65.4
					LPGERGRPGAPGP	1026.58	76.8
					GPKGDRGLPGPPGRDGM	1358.76	89.6

GLP-1 的释放和脂肪细胞对葡萄糖的摄取,在模拟胃肠液消化后,水解物对 DPP-IV 的抑制作用以及对胰岛素的刺激作用无明显变化,而 GLP-1 的释放显著增加。此外,在正常健康小鼠中观察到蓝鳕鱼水解物的急性(90~120 min)和持续性(4 h)降糖作用。这些结果表明,蓝鳕鱼蛋白水解物在体外的降糖作用可能同样适用于体内。

JI 等^[53]用 Corolase PP 酶解南极磷虾,再经过超滤、凝胶色谱柱、阴离子交换柱以及 RP-HPLC,最终成功分离出对 DPP-IV 和血管紧张素转换酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)都有抑制活性的两种肽:KVEPLP 和 PAL,这两种肽对 DPP-IV 的 IC₅₀ 值分别为 0.73 和 0.88 mg/mL。

上述研究表明,许多食物蛋白经酶解后都存在具有 DPP-IV 抑制作用的肽,这为进一步的研究提供了理论依据。同时,一种生物活性肽可能具有抑制两种甚至多种酶活性的功能,提示多功能肽有望成为一个新的研究方向。

有关 DPP-IV 抑制肽的结构与其生物活性的关系尚未完全阐明,对上述成功分离出的几种多肽整理发现,具有 DPP-IV 抑制活性的肽通常在其 N 端第一或第二位都有 Pro 的存在(表 1)。此外,在蜡样芽孢杆菌培养滤液中鉴定出来的 Ile-Pro-Ile 是迄今为止所报道的最有效的 DPP-IV 抑制肽^[30, 54],进一步证实了 Pro 是其具有 DPP-IV 抑制作用的关键所在。LACROIX 等^[55]用硅化法对 9 种食品中的 34 种蛋白质作为 DPP-IV 抑制肽前体的潜力进行了评估。在所研究的 34 个蛋白中,共发现 2256 个肽段序列与文献报道的具有 DPP-IV 抑制活性的肽段序列一致,其中 Gly-Ala、Gly-Pro 和 Pro-Gly 是出现频率最高的序列。经模拟胃肠道消化后,许多肽仍具有 DPP-IV 抑制活性,说明它们可能是具有 DPP-IV 抑制特性的潜在功能成分,有望用于治疗或控制 II-型糖尿病的发生与发展。

4 结语与展望

目前,许多体外研究以及动物实验都证明了食源性肽可作为 DPP-IV 抑制剂的潜在来源。有些食源性肽不仅具有 DPP-IV 抑制活性,还具有抑制 ACE 等其他生物活性,有可能发展为多功能肽。然而,蛋白质水解物对人体血浆 DPP-IV 活性的影响尚待评估,需要更详细的人体研究来全面评估其疗效、安全性和效力。迄今为止,已鉴定的 DPP-IV 食品蛋白衍生肽抑制剂尚未显示出与合成药物抑制剂同等的效力。因此,这些抑制剂可能最适合于糖尿病前期或轻度糖尿病患者的联合治疗或作为营养干预策略的一部分^[7]。同时,这也对科学家们提出了新的挑战,如何强化食源性 DPP-IV 抑制肽的作用,使其达到不仅天然、安全,而且高效,甚至达到相当于药物的治疗效果。随着对食源性肽研究的更加深入,它们将来有望作为一种新的手段

来治疗 II-型糖尿病。

参考文献

- [1] SAEEDI P, PETERSON I, SALPEA P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the international diabetes federation diabetes atlas, 9th edition[J]. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2019, 157: 107843.
- [2] 李昱, 杜余辉, 周帅, 等. 肠道微生物群在 2 型糖尿病病理生理学中的作用[J]. *中华糖尿病杂志*, 2019(3): 218-221. [LI Y, DU Y H, ZHOU S, et al. Roles of intestinal microbiota in the pathophysiology of type 2 diabetes[J]. *Chinese Journal of Diabetes Mellitus*, 2019(3): 218-221.]
- [3] KAHN S E, COOPER M E, DEL PRATO S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: Perspectives on the past, present, and future[J]. *The Lancet*, 2014, 383(9922): 1068-1083.
- [4] KEHINDE B A, SHARMA P. Recently isolated antidiabetic hydrolysates and peptides from multiple food sources: A review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2020, 60(2): 322-340.
- [5] CHATTERJEE S, KHUNTI K, DAVIES M J. Type 2 diabetes[J]. *The Lancet*, 2017, 389(10085): 2239-2251.
- [6] BEN AVRAHAM S, HARMAN BOEHM I, SCHWARZFU-CHS D, et al. Dietary strategies for patients with type 2 diabetes in the era of multi-approaches: review and results from the dietary intervention randomized controlled trial (Direct)[J]. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2009, 86: S41-S48.
- [7] POWER O, NONGONIERMA A B, JAKEMAN P, et al. Food protein hydrolysates as a source of dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides for the management of type 2 diabetes[J]. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 2014, 73(1): 34-46.
- [8] RASMUSSEN H B, BRANNER S, WIBERG F C, et al. Crystal structure of human dipeptidyl peptidase IV/CD26 in complex with a substrate analog[J]. *Nature Structural Biology*, 2003, 10(1): 19-25.
- [9] WANG T Y, HSIEH C H, HUNG C C, et al. Fish skin gelatin hydrolysates as dipeptidyl peptidase IV inhibitors and glucagon-like peptide-1 stimulators improve glycaemic control in diabetic rats: A comparison between warm- and cold-water fish[J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 19: 330-340.
- [10] DRUCKER D J. The biology of incretin hormones[J]. *Cell Metabolism*, 2006, 3(3): 153-165.
- [11] DRUCKER D J. The role of gut hormones in glucose homeostasis[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2007, 117(1): 24-32.
- [12] TIAN L, JIN T. The incretin hormone GLP-1 and mechanisms underlying its secretion[J]. *Journal of Diabetes*, 2016, 8(6): 753-765.
- [13] ANDERSEN E S, DEACON C F, HOLST J J. Do we know the true mechanism of action of the DPP-4 inhibitors?[J]. *Diabetes Obesity and Metabolism*, 2018, 20(1): 34-41.
- [14] GOR D, LEE T A, SCHUMOCK G T, et al. Adherence and persistence with DPP-4 inhibitors versus pioglitazone in Type 2 diabetes patients with chronic kidney disease: A retrospective claims database analysis[J]. *Journal of Managed Care + Specialty*

Pharmacy, 2020, 26(1): 67–75.

[15] 侯丰赞, 郑骄阳. 2 型糖尿病新一代降糖药的药物基因组学的最新进展[J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(1): 103–114.

[HOU X Y, ZHENG J Y. Current progress in pharmacogenetics of new-generation antidiabetic medications for type 2 diabetes[J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2021, 41(1): 103–114.]

[16] HOWSE P M, CHIBRIKOVA L N, TWELLS L K, et al. Safety and efficacy of incretin-based therapies in patients with type 2 diabetes mellitus and CKD: A systematic review and meta-analysis[J]. American Journal of Kidney Diseases, 2016, 68(5): 733–742.

[17] ZHONG J, MAISEYEU A, DAVIS S N, et al. DPP4 in cardiometabolic disease: Recent insights from the laboratory and clinical trials of DPP4 inhibition[J]. Circulation Research, 2015, 116(8): 1491–504.

[18] KARAGIANNIS T, PASCHOS P, PALETAS K, et al. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors for treatment of type 2 diabetes mellitus in the clinical setting: systematic review and meta-analysis[J]. The British Medical Journal, 2012, 344: e1369.

[19] DORE D D, SEEGER J D, ARNOLD CHAN K. Use of a claims-based active drug safety surveillance system to assess the risk of acute pancreatitis with exenatide or sitagliptin compared to metformin or glyburide[J]. Current Medical Research and Opinion, 2009, 25(4): 1019–1027.

[20] GARG R, CHEN W, Pendergrass M. Acute pancreatitis in type 2 diabetes treated with exenatide or sitagliptin: A retrospective observational pharmacy claims analysis[J]. Diabetes Care, 2010, 33(11): 2349–2354.

[21] DICEMBRINI I, MONTEREGGI C, NREU B, et al. Pancreatitis and pancreatic cancer in patients treated with dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: An extensive and updated meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2020, 159: 107981.

[22] ZHENG Y, LEY S H, HU F B. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications[J]. Nature Reviews Endocrinology, 2018, 14(2): 88–98.

[23] TU M, CHENG S, LU W, et al. Advancement and prospects of bioinformatics analysis for studying bioactive peptides from food-derived protein: Sequence, structure, and functions[J]. TrAC-Trends in Analytical Chemistry, 2018, 105: 7–17.

[24] 夏新斌, 刘金红, 谢梦洲, 等. 日本功能性食品发展对中国药膳产业发展的启示[J]. 食品与机械, 2018, 34(11): 205–207, 220. [XIA X B, LIU J H, XIE M Z, et al. Enlightenment of the development of functional food in Japan on the development of Chinese medicinal food industry[J]. Food & Machinery, 2018, 34(11): 205–207, 220.]

[25] KITTS D D, WEILER K. Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery[J]. Current Pharmaceutical Design, 2003, 9(16): 1309–1323.

[26] SÁNCHEZ A, VÁZQUEZ A. Bioactive peptides: A review[J]. Food Quality and Safety, 2017, 1(1): 29–46.

[27] BHULLAR K S, DREWS S J, WU J P. Translating bioactive

peptides for COVID-19 therapy[J]. European Journal of Pharmacology, 2021, 890(5): 173661.

[28] 王宁, 令狐恩强. 寡肽吸收的研究进展[J]. 中华胃肠内镜电子杂志, 2018, 5(4): 167–173. [WANG N, LINGHU E Q. Advances in oligopeptides absorption[J]. Chinese Journal of Gastrointestinal Endoscopy(Electronic Edition), 2018, 5(4): 167–173.]

[29] RIVERO-PINO F, ESPEJO-CARPIO F J, GUADIX E M. Production and identification of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides from discarded sardine pilchardus protein[J]. Food Chemistry, 2020, 328(30): 127096.

[30] NONGONIERMA A B, FITZGERALD R J. Features of dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory peptides from dietary proteins[J]. Journal of Food Biochemistry, 2019, 43(1): e12451.

[31] POWER GRANT O, BRUEN C, BRENNAN L, et al. In vitro bioactive properties of intact and enzymatically hydrolysed whey protein: targeting the enteroinsular axis[J]. Food & Function, 2015, 6(3): 972–80.

[32] UENISHI H, KABUKI T, SETO Y, et al. Isolation and identification of casein-derived dipeptidyl-peptidase 4 (DPP-4)-inhibitory peptide LPQNIPPL from gouda-type cheese and its effect on plasma glucose in rats[J]. International Dairy Journal, 2012, 22(1): 24–30.

[33] 赵蕊, 姚鑫森, 周野, 等. 食源二肽基肽酶IV抑制剂的研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(7): 315–321. [ZHAO R, YAO X M, ZHOU Y, et al. Recent advances and future prospects of food-derived dipeptidyl peptidase IV Inhibitors[J]. Food Science, 2020, 41(7): 315–321.]

[34] 李璇, 杜梦霞, 王富龙, 等. 生物活性肽的制备及分离纯化方法研究进展[J]. 食品工业科技, 2017, 38(20): 336–340, 346.

[LI X, DU M X, WANG F L, et al. Research progress in preparation and purification of bioactive peptides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(20): 336–340, 346.]

[35] HUANG S L, JAO C L, HO K P, et al. Dipeptidyl-peptidase IV inhibitory activity of peptides derived from tuna cooking juice hydrolysates[J]. Peptides, 2012, 35(1): 114–121.

[36] ZHU C F, LI G Z, PENG H B, et al. Treatment with marine collagen peptides modulates glucose and lipid metabolism in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Applied Physiology Nutrition and Metabolism, 2010, 35(6): 797–804.

[37] HSIEH C H, WANG T Y, HUNG C C, et al. Improvement of glycemic control in streptozotocin-induced diabetic rats by Atlantic salmon skin gelatin hydrolysate as the dipeptidyl-peptidase IV inhibitor[J]. Food & Function, 2015, 6(6): 1887–1892.

[38] HOLST J J, GROMADA J. Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans[J]. American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism, 2004, 287(2): E199–206.

[39] HOLST J J, DEACON C F. Glucagon-like peptide 1 and inhibitors of dipeptidyl peptidase IV in the treatment of type 2 diabetes mellitus[J]. Current Opinion in Pharmacology, 2004, 4(6): 589–596.

[40] ZATORSKI H, SALAGA M, FICHNA J. Role of glucagon-like peptides in inflammatory bowel diseases-current knowledge and

- future perspectives[J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2019, 392(11): 1321–1330.
- [41] DRUCKER D J. Dipeptidyl peptidase-4 inhibition and the treatment of type 2 diabetes- Preclinical biology and mechanisms of action[J]. *Diabetes Care*, 2007, 30(6): 1335–1343.
- [42] HATANAKA T, INOUE Y, ARIMA J, et al. Production of dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides from defatted rice bran[J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(2): 797–802.
- [43] AHRÉN B, SCHWEIZER A, DEJAGER S, et al. Mechanisms of action of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor vildagliptin in humans[J]. *Diabetes Obesity and Metabolism*, 2011, 13(9): 775–783.
- [44] VELARDE-SALCEDO A J, BARRERA-PACHECO A, LARA-GONZÁLEZ S, et al. *In vitro* inhibition of dipeptidyl peptidase IV by peptides derived from the hydrolysis of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) proteins[J]. *Food Chemistry*, 2016, 192: 758–764.
- [45] LOREY S, STÖCKEL-MASCHEK A, FAUST J, et al. Different modes of dipeptidyl peptidase IV (CD26) inhibition by oligopeptides derived from the N-terminus of HIV-1 Tat indicate at least two inhibitor binding sites[J]. *European Journal of Biochemistry*, 2003, 270(10): 2147–56.
- [46] HARNEDY P A, PARTHSARATHY V, MCLAUGHLIN C M, et al. Atlantic salmon (*Salmo salar*) co-product-derived protein hydrolysates: A source of antidiabetic peptides[J]. *Food Research International*, 2018, 106: 598–606.
- [47] 朱蓓薇. 聚焦营养与健康, 创新发展海洋食品产业[J]. *轻工学报*, 2017, 32(1): 1–6. [ZHU B W. Focus on nutrition and health, innovation and development of marine food industry[J]. *Journal of Light Industry*, 2017, 32(1): 1–6.]
- [48] 毛相朝. 现代生物技术在海洋功能性食品开发中的应用[J]. *生物产业技术*, 2019, 4(3): 11–15. [MAO X C. Application of modern biotechnology in the development of marine functional food[J]. *Biotechnology & Business*, 2019, 4(3): 11–15.]
- [49] 屈帅杰, 刘淑集, 苏永昌, 等. 响应面法优化菊黄东方鲀肌肉多肽制备工艺[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(12): 133–138. [QU S J, LIU S J, SU Y C, et al. Optimization of polypeptides extraction from *Takifugu flavidus* by response surface methodology[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(12): 133–138.]
- [50] LI CHAN E C, HUNAG S L, JAO C L, et al. Peptides derived from atlantic salmon skin gelatin as dipeptidyl-peptidase IV inhibitors[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(4): 973–978.
- [51] ZHANG Y, CHEN R, CHEN X, et al. Dipeptidyl peptidase IV-inhibitory peptides derived from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix* Val.) proteins[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(4): 831–839.
- [52] HARNEDY P A, PARTHSARATHY V, MCLAUGHLIN C M, et al. Blue whiting (*Micromesistius poutassou*) muscle protein hydrolysate with *in vitro* and *in vivo* antidiabetic properties[J]. *Journal of Functional Foods*, 2018, 40: 137–145.
- [53] JI W, ZHANG C, JI H. Two novel bioactive peptides from Antarctic krill with dual angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase IV inhibitory activities[J]. *Journal of Food Science*, 2017, 82(7): 1742–1749.
- [54] UMEZAWA H, AOYAGI T, OGAWA K, et al. Diprotins A and B, inhibitors of dipeptidyl aminopeptidase IV, produced by bacteria[J]. *Journal of Antibiotics (Tokyo)*, 1984, 37(4): 422–425.
- [55] LACROIX I M E, LI-CHAN E C Y. Evaluation of the potential of dietary proteins as precursors of dipeptidyl peptidase (DPP)-IV inhibitors by an *in silico* approach[J]. *Journal of Functional Foods*, 2012, 4(2): 403–422.