

- the receptor tyrosine kinase RON in distal lung epithelial cells results in multiple tumor formation; potential of RON *in vivo*. *Oncogene*, 2002, 21: 6382-6386.
- 5 Chen YQ, Zhou YQ, Fu LH, et al. Multiple pulmonary adenomas in the lung of transgenic mice overexpressing the RON receptor tyrosine kinase. Recepteur d'origine nantais. *Carcinogenesis*, 2002, 23: 1811-1819.
- 6 Osada H, Takahashi T. Genetic alteration of multiple tumor suppressors and oncogenes in the carcinogenesis and progression of lung cancer. *Oncogene*, 2002, 21: 7421-7434.
- 7 Wang MH, Wang D, Chen YQ. Oncogenic and invasive potentials of human macrophage-stimulating protein receptor, the RON receptor tyrosine kinase. *Carcinogenesis*, 2003, 24: 1291-1300.
- 8 Danilovitch-Miagkova A, Miagkov A, Skeel A, et al. Oncogenic mutants of Ron and MET receptor tyrosine kinases cause activation of the β -catenin Pathway. *Mol Cell Biol*, 2001, 21: 5857-5868.
- 9 Angeloni D, Danilovitch-Miagkova A, Miagkov A, et al. The soluble sema domain of the Ron receptor inhibits MSP-induced receptor activation. *J Biol Chem*, 2004, 279: 3726-3732.

· 基础研究 ·

大豆低聚肽对自发性高血压大鼠降血压作用的研究

徐广飞 黄金华 吴杰 仇梁林

【摘要】 目的 探讨不同剂量的大豆低聚肽(SBOP)对自发性高血压大鼠(SHR)的降血压作用及其机制。方法 6~8 周龄雌性 SHR 大鼠 30 只及同周龄同体重 Sprague-Dawley(SD)雌性大鼠 6 只随机分为 A 组(SHR 对照组, 饮水中不加 SBOP 及药物卡托普利)、B 组[SBOP 低剂量组, 饮水中按 100 mg/(L·d)加入 SBOP]、C 组[SBOP 中剂量组, 饮水中按 500 mg/(L·d)加入 SBOP]、D 组[SBOP 高剂量组, 饮水中按 1000 mg/(L·d)加入 SBOP]、E 组[卡托普利药物处理组, 饮水中按 50 mg/(L·d)加入卡托普利]、F 组[SD 正常血压对照组, 饮水中按 1000 mg/(L·d)加入 SBOP], 实验期共 30 d。尾袖法测定大鼠尾动脉血压, 比色法测定血清及组织血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)活性。结果 给予低、中、高 3 种剂量的 SBOP 30 d 后 SHR 大鼠血压分别为(155.5 ± 15.6), (153.0 ± 4.5), (151.5 ± 5.0) mmHg, 卡托普利药物处理组为(148.0 ± 15.6) mmHg, SHR 对照组为(174.0 ± 11.5) mmHg, 正常 SD 大鼠为(136.5 ± 9.6) mmHg ($P < 0.05$)。SBOP 组与 SHR 对照组血清及主动脉 ACE 活性分别为(0.0118 ± 0.069), (0.0121 ± 0.0011), (0.0305 ± 0.0048), (0.0290 ± 0.0037) U ($P > 0.05$), 而卡托普利药物处理组为(0.0054 ± 0.0016), (0.0219 ± 0.0039) U ($P < 0.05$)。血清钠离子浓度 SBOP、卡托普利药物处理组分别为(0.0896 ± 0.0050), (0.0900 ± 0.0012) μ mol/L, SHR 对照组为(0.1028 ± 0.0056) μ mol/L ($P < 0.05$)。结论 中、高剂量 SBOP 能有效地降低 SHR 大鼠的血压, 且随剂量的增加血压有呈指数下降的趋势, 但 SBOP 的降压效果始终不及降压药物卡托普利。SBOP 对正常血压大鼠的血压无影响。SBOP 降血压作用可能与降低外周组织液钠离子浓度有关, 而与降低 ACE 活性无关。

【关键词】 大豆低聚肽; 降血压作用; 血管紧张素转移酶; 自发性高血压大鼠

Antihypertensive effect of soybean oligopeptide on spontaneously hypertensive rats

XU Guangfei, HUANG Jinhua, WU Jie, et al

Department of Nutrition, Nantong Medical College, Nantong 226001, China

【Abstract】 Objective To study the effects of soybean oligopeptide(SBOP) on spontaneously hypertensive rats(SHR).

Methods Thirty 6-8 week-old female spontaneously hypertensive rats and six 6-8 week-old female Sprague-Dawley rats were

收稿日期: 2004-04-08

作者单位: 226001 南通市, 南通医学院营养与食品卫生学教研室(徐广飞, 吴杰, 仇梁林), 机能实验室(黄金华)

作者简介: 徐广飞, 女, 1965 年 5 月生, 江苏省南通市人, 医学硕士, 副教授

通讯作者: 黄金华, E-mail: huangjinhua@ntu.edu.cn

randomly divided into 6 groups: group A(SHR control group), group B(100 mg/(L·d) SBOP was added to drinking water for 30 days), group C(500 mg/(L·d) SBOP was added to drinking water for 30 days), group D(1000 mg/(L·d) SBOP was added to drinking water for 30 days), group E(50 mg/(L·d) captopril was added to drinking water for 30 days), and group F [6·8week-old female Sprague-Dawley rats, 1000 mg/(L·d) SBOP was added to drinking water for 30 days]. Systolic blood pressure was measured using the tail-cuff(BP-98A). **Results** After feeding for 30 days, blood pressure readings of SHRs receiving three different dose levels [100, 500, and 1000 mg/(L·d)] of SBOP were (155.5 ± 15.6) , (153.0 ± 4.5) and (151.5 ± 5.0) mmHg respectively, while the blood pressure readings of captopril-treated and SHR control groups were (148.0 ± 15.6) and (174.0 ± 11.5) mmHg respectively ($P < 0.05$). Little change occurred in the blood pressure of SD rats even receiving the highest dose. The ACE activity of serum, aorta and lung of SHRs upon administration of SBOP did not show significant difference from that of the SHR control group, whereas serum and aorta ACE activity decreased significantly ($P < 0.05$) in the captopril-treated group. Serum Na^+ concentration decreased significantly in both SBOP treated groups and captopril treated group as compared with SHR control group ($P < 0.05$). **Conclusions** A significant ($P < 0.05$) decrease in systolic blood pressure of SHR was observed when SBOP 500 and 1000 mg/(L·d) was orally administrated, whereas little change occurred in the blood pressure of normotensive rats even receiving the highest dose. Antihypertensive effect of SBOP could not be related to ACE inhibition, but at least partly attributed to the action on salt/water balance.

【Key words】 soybean oligopeptide; antihypertensive effect; angiotensin converting enzyme; spontaneously hypertensive rat

高血压是严重危害人类健康的常见心血管系统疾病,肾素-血管紧张素-醛固酮系统在其发病中起重要作用。研究表明,从许多食物(鱼、肉、奶、米等)中提取的蛋白短肽能有效抑制血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)的活力,从而具有抗高血压效果^[1,2]。大豆是一种含蛋白质丰富且价格低廉的优质蛋白质来源性食物,利用酶法水解可从大豆中提取出类似的大豆低聚肽(soybean oligopeptide, SBOP),但其是否具有同样的抗高血压效果尚无研究报道,为此作者进行了相关实验研究。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂 大豆蛋白水解肽:低温脱脂豆粕经过弱碱浸泡、磨浆分离、板框过滤、超滤等手段获得一定浓度的分离大豆蛋白液。选择经微生物发酵得到的蛋白酶(与人体消化酶具不同的水解切点),并确定好用量和使用条件,得到具有相当水解度的大豆蛋白水解液,再进一步脱色、脱盐、柱层析(纯化)、干燥得到低聚肽^[3]。卡托普利:中美上海施贵宝制药有限公司出品。马尿酸甘氨酸:Aldrich 公司产品。

1.2 动物及分组 自发性高血压大鼠(spontaneously hypertensive rat, SHR)30 只,雌性,6~8 周龄,体重 160~200 g,购自上海高血压研究所。普通 Sprague-Dawley (SD)雌性大鼠 6 只,同性别,同周龄,由南通医学院实验动物中心提供。动物在实验室适应 1 周后,根据所测基础血压及体重的大小,按随机区组设

计分为 6 组:A 组(SHR 对照组,饮水中不加 SBOP)、B 组[SBOP 低剂量组,饮水中按 100 mg/(L·d)加入 SBOP]、C 组[SBOP 中剂量组,饮水中按 500 mg/(L·d)加入 SBOP]、D 组[SBOP 高剂量组,饮水中按 1000 mg/(L·d)加入 SBOP]、E 组[药物对照组,饮水中按 50 mg/(L·d)加入卡托普利]、F 组[SD 正常血压对照组,饮水中按 1000 mg/(L·d)加入 SBOP],所有动物均单笼饲养,自由进食饮水,实验期共 30 d。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 血压 用尾袖法以 BP-98A 血压记录仪从大鼠尾动脉记录血压,每 6 d 测一次,共测 6 次。

1.3.2 血清及组织 ACE 活力测定 实验期满动物撤食 20 h 后经股静脉放血处死,取空腹血清、胸部大动脉、肺组织,用比色法测定 ACE 活力^[2]。

1.3.3 血脂及血红蛋白 实验期满经股静脉取血用生化自动分析仪测定空腹血清总胆固醇(Tch)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL)、载脂蛋白 A1(apoA1)、载脂蛋白 B(apoB)及血红蛋白(Hb)。

1.3.4 血清无机盐及微量元素 实验期满经股静脉取血用原子吸收分光光度计测定空腹血清钾、钠、钙含量。

1.3.5 体重 每 3 d 称体重一次,固定时间,固定称量器具。

1.4 统计学处理 用 Stata 统计软件对所有数据进行分析,包括统计描述、方差分析及两两比较、相关回归分析、趋势分析、曲线拟合、图表制作等。部分

多元分析用 SAS 统计软件进行。

2 结果

2.1 血压

2.1.1 血压的变化及趋势 各组大鼠不同实验期血压测定值及变化趋势见表 1。

2.1.2 各实验组间血压比较 对表 1 资料进行协方差分析:以时间为协变量,扣除个体间差异,各实验组间差异有显著性, $F = 63.94$, $P < 0.001$ 。两两比较结果见表 2。

2.1.3 各组血压随时间的变化趋势 考虑各实验组血压值随时间的变化规律可能不同,进一步分析时间与实验组的交互作用,结果有显著性, $F = 4.41$, $P < 0.001$ 。在对各实验组血压值随时间的变化趋势进行回归分析时发现,血压随时间的延长呈指数下降趋势(图 1),故对时间变量进行对数变换,再行回归分析,结果显示(表 1):零剂量组和正常血压组无变化趋势($P > 0.05$),其余四组血压均随时间延长而逐渐下降($P < 0.01$)。

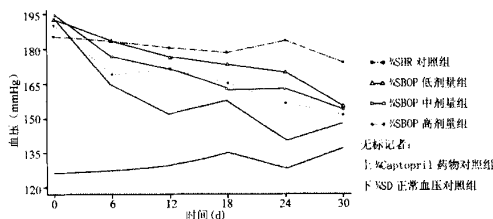


图 1 各组大鼠不同实验期血压变化图

表 1 不同剂量 SBOP 对 SHR 大鼠血压影响 (mmHg, $\bar{x} \pm s$) 及趋势分析

组别	第 0 天	第 6 天	第 12 天	第 18 天	第 24 天	第 30 天	下降趋势	
							r	P 值
零剂量组	185.3 ± 3.2	183.3 ± 9.8	180.3 ± 4.5	178.3 ± 7.6	183.3 ± 6.4	174.0 ± 11.5	-0.6354	0.086
低剂量组	193.2 ± 28.1	183.8 ± 24.8	176.8 ± 17.2	173.5 ± 18.4	170.0 ± 17.4	155.5 ± 15.6	-0.9989	0.004*
中剂量组	195.0 ± 22.8	177.0 ± 20.0	171.2 ± 11.0	162.8 ± 26.2	163.5 ± 33.5	153.0 ± 4.5*	-0.9841	0.002*
高剂量组	190.5 ± 18.6	169.0 ± 2.6	171.5 ± 8.4	165.2 ± 6.6	156.5 ± 11.4	151.5 ± 5.0	-0.9425	0.003*
药物对照组	194.0 ± 12.1	164.0 ± 3.4	151.6 ± 3.5	158.0 ± 2.6	140.3 ± 15.6	148.0 ± 15.6	-0.9476	0.008*
正常血压组	126.2 ± 14.6	127.6 ± 12.4	129.4 ± 16.7	135.2 ± 10.4	128.0 ± 9.6	136.5 ± 9.6	0.5748	0.113

注: * 下降趋势有显著性 ($P < 0.01$), # 因两只动物意外死亡,均数可能受影响

表 2 血压值在各实验组间的两两比较 (P 值)

组别	零剂量组	低剂量组	中剂量组	高剂量组	药物对照组	正常血压组
零剂量组	.	0.1602	0.0261	0.0012	0.0001	0.0001
低剂量组	0.1602	.	0.3471	0.0434	0.0001	0.0001
中剂量组	0.0261	0.3471	.	0.3007	0.0013	0.0001
高剂量组	0.0012	0.0434	0.3007	.	0.0198	0.0001
药物对照组	0.0001	0.0001	0.0013	0.0198	.	0.0001
正常血压组	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	.

2.1.4 剂量与降压反应的关系 从 4 个不同剂量组(零、低、中、高)的血压值来看,有随剂量增加呈指数下降的趋势(图 2),将剂量作指数变换后进行回归分析,结果显示: $r = 0.9841$, $P = 0.008$, 方程为 $d = -17.0193 - 2.4657 \ln(\text{dose} + 0.01)$ (图 2)。

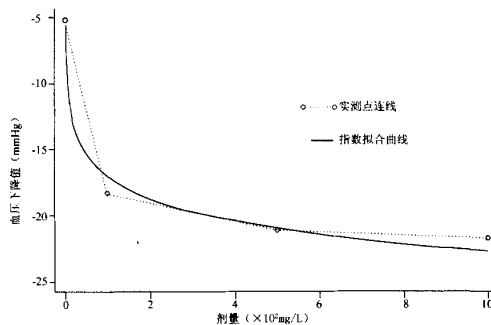


图 2 剂量反应与指数曲线拟合
($d = -17.0191 - 2.4657 \ln(\text{dose} + 0.01)$)

2.2 血清、大动脉及肺组织 ACE 活性 各组大鼠血清及不同组织 ACE 活性测定结果(表 3)。表 3 显示,与 SHR 对照组相比,降血压药物卡托普利能使血清及胸部大动脉组织 ACE 活力降低,这也正是其降压的主要机制,但 SBOP 对血清及组织中 ACE 活性未见明显影响。

2.3 血脂 见表 4。

2.4 Hb 及血清无机盐 见表 5。

表 3 各组大鼠不同组织 ACE 活力测定(U, $\bar{x} \pm s$)

组别	血清	大动脉	肺
SHR 对照组	0.0121 ± 0.0011 ^a	0.0290 ± 0.0037 ^a	0.1172 ± 0.0135 ^a
SBOP 组	0.0118 ± 0.0069 ^a	0.0305 ± 0.0048 ^a	0.1040 ± 0.0262 ^a
卡托普利处理组	0.0054 ± 0.0016 ^b	0.0219 ± 0.0039 ^b	0.1193 ± 0.0102 ^a

注:角注字母相同者差异无显著性,字母不同者差异有显著性($P < 0.05$)

表 4 各组大鼠血脂测定值($\bar{x} \pm s$)

组别	Tch (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL (mmol/L)	LDL (mmol/L)	HDL/ LDL	apoA1 (mg/dl)	ApoB (mg/dl)	apoA1/ apoB
SHR 对照组	1.66 ± 0.03	0.91 ± 0.05	0.97 ± 0.06	0.51 ± 0.04	1.92 ± 0.25	7.67 ± 1.53	9.67 ± 3.05	0.82 ± 0.19
SBOP 组	1.94 ± 0.20	0.84 ± 0.35	1.11 ± 0.11	0.64 ± 0.13	1.73 ± 0.36	10.78 ± 4.76	13.33 ± 5.15	0.83 ± 0.27
卡托普利处理组	1.84 ± 0.10	1.09 ± 0.46	1.07 ± 0.11	0.55 ± 0.08	1.95 ± 0.21	11.00 ± 1.73	16.67 ± 4.51	0.68 ± 0.13

注:以上各指标在各组间的差异均无显著性($P > 0.05$)

表 5 各组大鼠血清 Na、K、Ca、Hb 含量($\bar{x} \pm s$)

组别	Na(μ mol/L)	K(μ mol/L)	Ca(μ mol/L)	Hb(g/L)
SHR 对照组	0.1028 ± 0.0056 ^a	0.0079 ± 0.0001 ^a	0.0022 ± 0.0001 ^a	151.00 ± 7.36 ^a
SBOP 组	0.0896 ± 0.0050 ^b	0.0071 ± 0.0001 ^a	0.0023 ± 0.0002 ^a	150.49 ± 7.16 ^a
卡托普利处理组	0.0900 ± 0.0012 ^b	0.0076 ± 0.0001 ^a	0.0022 ± 0.0001 ^a	143.07 ± 8.03 ^a

注:角注字母相同者差异无显著性,字母不同者差异有显著性($P < 0.05$)

2.5 体重 各组高血压大鼠在实验各期体重变化均未见明显差异,用药组与未用药组大鼠体重一致,说明此 SBOP 对 SHR 大鼠的生长发育无明显不良影响。SD 正常血压大鼠由于种系的不同,体重增长较快,实验期末体重显著高于 SHR 大鼠(数据略)。

3 讨论

研究表明,从牛奶蛋白、小麦蛋白、鱼类蛋白及油菜籽蛋白等食物蛋白中分离出的降血压肽具有抑制 ACE 酶活性及降低高血压病人血压的能力,尽管这种来源于食物的降血压肽的降压效果不及药物合成的 ACE 抑制剂,但因其对正常血压没有影响,并具有天然来源的安全性,其潜在的市场应用价值仍十分诱人^[1,2,4,5]。本研究发现,从大豆蛋白分离出的 SBOP 以低剂量[100 mg/(L·d)]喂饲 SHR 大鼠即有明显的降压趋势($P < 0.05$,表 1),但扣除个体间差异后发现,仅中、高剂量组[分别为 500 mg/(L·d)、1000 mg/(L·d)]口服 SBOP 30 d 后的血压与对照组差异有显著性 ($P < 0.05$,表 2),进一步分析发现低、中、高不同剂量 SBOP 口服对 SHR 大鼠的降压效果有随剂量增加而呈指数下降的趋势(图 2);而血压正常的 SD 大鼠即使口服高剂量的 SBOP 血压基本没有影响;表 1 结果同时表明 SBOP 的降压效果始终不及降压药物卡托普利,这些结果与文献报道

一致^[4,5]。但本研究发现 SBOP 没有对 SHR 大鼠血清及组织的 ACE 活性产生抑制作用(与 SHR 对照组相比, $P > 0.05$;卡托普利处理组血清与大动脉 ACE 活性降低, $P < 0.05$,表 3),有关 SBOP 对 SHR 的降压作用机制需要作进一步的研究,但研究发现 SBOP 可使 SHR 大鼠血清钠离子浓度降低(与 SHR 对照组比, $P < 0.05$,表 5)说明 SBOP 对 SHR 大鼠的降压作用至少可能与调整大鼠外周组织中 $\text{Na}^+/\text{H}_2\text{O}$ 平衡有关。

参考文献

1 Souichiro S, Yoshil K, Eiichi K, et al. Antihypertensive effects of tryptic hydrolysate of casein on normotensive and hypertensive volunteers. J Jpn Soc Nutr Food Sci, 1992,45:513-517.
2 Hideaki K, Kunio D, Shigeru S, et al. Antihypertensive effect of tryptic hydrolysate of milk casein in spontaneously hypertensive rats. Comp Biochem Physiol, 1990,96C:367-371.
3 易维学, 胡顺涛, 姜宇. 大豆低聚肽的开发利用. 精细与专用化学品, 2001,1:15-17.
4 Marczak ED, Usui H, Fujita H, et al. New antihypertensive peptides isolated from rapeseed. Peptides, 2003,24:791-798.
5 Motoi H, Kodama T. Isolation and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from wheat gliadin hydrolysate. Nahrung, 2003,47:354-358.