카제인 유래 생리활성 Peptide의 체내 효과

정호정 · 민복기 · 곽해수*

세종대학교 식품공학과

Physiological Effects of Casein-derived Bioactive Peptides

Hojung Jung, Bockki Min, and Hae-Soo Kwak*

Department of Food Science and Technology, Sejong University, Seoul 143-747, Korea

Abstract

Casein is considered to be the main source of protein in milk; therefore, many studies have been conducted to identify casein-derived bioactive peptides and their physiological effects. Casein is inactive within the parent protein but can be liberated by various proteases and enzymatic hydrolysis during microbial fermentation and gastrointestinal digestion. Once absorbed, casein exhibits different bioavailabilities in the body. Specifically, casein-derived peptides function as angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor in the cardiovascular system; thus, they are expected to reduce and prevent hypertension. Additionally, casein-derived peptides behave as opioid-like peptides in the nervous system, which impacts relaxation. These peptides are also expected to modulate various aspects of immune functions. Finally, caseinophosphopeptide (CPP) and glycomacropeptide (GMP) may exhibit a number of nutritional effects such as the absorption of calcium, iron or zinc. Many studies have been conducted to evaluate casein-derived peptides due to their multifunctional properties and the results of these studies have contributed to the development of a wide variety of functional dairy products. The purpose of this paper was to review the generation of bioactive peptides, their absorption and metabolism, and their specific bioactive effects.

Key words: bioactive peptides, casein, milk, absorption, functionality

서 론

우유는 약 3.2%의 단백질을 포함하는데 그 중 80%는 카제인이며, 20%는 유청단백질이다. 카제인은 산 불용성의 인단백질이며(Fox and Brodtkorb, 2008), α -, β -, κ -카제인으로 분류된다. 그리고 유청단백질은 구형을 띄며 카제인보다 물에서 잘 용해되는데(Haug *et al.*, 2007), 그 예로 β -lactoglobulin, α -lactalbumin 등이 있다(Pihlanto-Leppälä *et al.*, 1999).

지난 20여 년 동안 영양학적인 관점에서 식품 내의 단백질에 대한 여러 연구가 진행되어 왔다. 단백질이 아미노산의 주요 공급원이라는 것은 이미 잘 알려져 있으며, 더 나아가 최근에는 음식으로 섭취되는 단백질이 생리활성을 지닌 peptide를 매개로 하여 생체 내에서 중요한 기능을 한다는 것이 밝혀졌다. 일반적으로 peptide는 모체단백질 시퀀스 내에서는 불활성을 띄지만, 위장에서 소화되

는 동안 소화효소의 작용, 또는 식품을 가공, 처리하는 동안 발효나 숙성과정(예: 치즈의 숙성, 우유의 발효)을 통해 모체단백질에서 방출되어 활성화된다(Gobbetti *et al.*, 2002; Meisel and FitzGerald, 2003).

생리활성을 띄는 peptide는 우유, 계란, 생선뿐만 아니라 여러 식물에서도 볼 수 있다(Erdmann *et al.*, 2008). 유가공학 분야의 여러 연구결과에 의하면, 유제품에는 다양한 생리활성 peptide가 존재하며(Saito *et al.*, 2000), peptide는 치즈, 발효유와 같은 유제품에서 흔히 볼 수 있다(FitzGerald and Murray, 2006; Korhonen and Pihlanto-Leppälä, 2004; Sienkiewicz-Szlapka *et al.*, 2009b). 건강증진에 있어 식품이 주는 영향에 대한 인식이 증가하면서, 카제인에서 유래한 생리활성 peptide에 대한 연구결과들이 지속적으로 보고되고 있는데, 이들 생리활성 peptide는 조절인자로서 신체 내에서 호르몬과 같이 특수한 물리적 기능을 조절할 수 있다(Meisel and FitzGerald, 2003). 최근까지 연구된 카제인에서 유래한 peptide의 생리활성기능을 선택적으로 조절하여 기능성 식품이나 생리활성 강화 식품에 응용가능하며, 더 나아가 상업적인 목적으로 고부가가치 산업에 활용될 수 있을 것이다. 이에 생리활성을 지닌 peptide를 규

*Corresponding author : Hae-Soo Kwak, Department of Food Science and Technology, Sejong University, Seoul 143-747, Korea. Tel: 82-2-3408-3226, Fax: 82-2-3408-4319, E-mail: kwakhs@sejong.ac.kr

명하고 특성화시키기 위한 전략으로는 (1) 체외에서 단백질 전구체의 효소적인 분해에 의한 분리, (2) 체내에서 단백질 전구체의 소화를 통한 분리, (3) 생리활성을 가진 peptide와 구조적으로 일치하는 peptide의 화학적 합성 등이 있다(Blondelle and Lohner, 2000; Meisel and FitzGerald, 2000). 이와 같이 생리활성을 지닌 peptide를 포함하는 기능성 식품의 생산 방안은 자연에서 유래한 생리활성을 증가시키거나, 분리 또는 강화된 생리활성 peptide를 식품에 첨가함으로써 새로운 식품을 개발하는데 있다고 볼 수 있다.

따라서 본고에서는 우유나 유제품에 존재하는 카제인으로부터 유래한 생리활성 peptide가 어떠한 경로를 통해 생성되고, 섭취 및 흡수 기전과 이들의 대표적인 생리활성 기능 중 심혈관, 신경, 면역 및 영양에 미치는 영향에 대해 논하고자 한다.

생리활성 Peptide의 생성

카제인에서 유래된 생리활성 peptide가 생성되는 방법에는, (1) 소화효소에 의한 효소적인 가수분해(Kilara and Panyam, 2003; Korhonen and Pihlanto-Leppälä, 2003b), (2) 단백질 분해력을 가진 starter culture에 의한 우유의 발효(Fuglsang *et al.*, 2003; Gobbetti *et al.*, 2000; Sipola *et al.*, 2002), (3) 미생물이나 식물에서 유래한 효소에 의한 단백질 분해작용 등이 있다(Yamamoto *et al.*, 1994). 여러 연구에 의하면, 위에 열거한 세가지 방법을 조합하였을 때 생리활성 peptide를 효과적으로 생성할 수 있음이 밝혀졌

다(Korhonen and Pihlanto-Leppälä, 2003a).

단백질의 효소적인 가수분해에 의한 생리활성 peptide의 생성은 가장 일반적인 방법이라고 볼 수 있는데, pepsin, trypsin, 세균 및 곰팡이로부터 유래한 효소들은 여러 단백질로부터 생리활성을 지닌 peptide를 생성하는데 사용된다. 또 다른 방법으로는 미생물의 발효에 의한 가수분해가 있는데, 치즈, 발효유 등 유제품에서 사용되는 다양한 종류의 starter culture는 우수한 단백질 분해능력을 지니고 있다. 유산균은 카제인에서 아미노산을 생성하는 주요 공급원으로서 사용되는데(Juillard *et al.*, 1998), 생리활성 peptide는 발효유제품의 제조에 사용되는 starter와 non starter 박테리아(lactobacilli, lactococci와 streptococci)에 의해서도 생성될 수 있다(Ashar and Chand, 2004; FitzGerald and Murray, 2006; Fuglsang *et al.*, 2003; Leclerc *et al.*, 2002).

살아있는 미생물뿐만 아니라, 유산균에서 분리한 단백질 분해효소를 이용하여 우유 단백질로부터 생리활성 peptide를 얻을 수 있는데, 그 예로 *Lactobacillus helveticus* CM4에서 정제된 endopeptidase는 합성된 propeptide를 기질로 사용하여 항고혈압 peptide를 생성할 수 있음이 밝혀졌다(Ueno *et al.*, 2004). 치즈와 발효유에서 생성될 수 있는 다양한 생리활성 peptide의 예를 Table 1에 제시하였다.

여러 식품 단백질들이 체내에서 소화되는 동안 물리적으로 활성을 띠는 peptide가 생성된다는 것은 잘 알려져 있다(Ferranti *et al.*, 2004; Parrot *et al.*, 2003). 예를 들어, β -casomorphin과 CPP(caseinophosphopeptide)는 우유, 발효유, 치즈, 요구르트 등과 같은 유제품을 경구 섭취하는 경

Table 1. Bioactive peptides identified from cheese varieties and fermented milk products (Korhonen, 2009)

Product	Examples of identified bioactive peptides	Bioactivity	References
Cheese type			
Cheddar	α_{s1} - and β -casein fragments	Several phosphopeptides	Singh <i>et al.</i> , 1997
Italian varieties: Mozzarella, Crescenza, Italico, Gorgonzola	β -casein f(58-72)	ACE inhibitory	Smacchi <i>et al.</i> , 1998
Gouda	α_{s1} -casein f(1-9), β -casein f(60-68)	ACE inhibitory	Saito <i>et al.</i> , 2000
Festivo	α_{s1} -casein f(1-9), f(1-7), f(1-6)	ACE inhibitory	Ryhänen <i>et al.</i> , 2001
Emmental	α_{s1} - and β -casein fragments	Immunostimulatory, several phosphopeptides, antimicrobial	Gagnaire <i>et al.</i> , 2001
Manchego	Ovine α_{s1} -, α_{s2} - and β -casein fragments	ACE inhibitory	Gomez-Ruiz <i>et al.</i> , 2002
Emmental	Active peptides not identified	ACE inhibitory	Parrot <i>et al.</i> , 2003
44 samples of hard, semi-hard and soft cheese samples	Val-Pro-Pro, Ile-Pro-Pro	ACE inhibitory	Bütikofer <i>et al.</i> , 2007
Cheddar	α_{s1} -casein f(1-6), f(1-7), f(1-9), f(24-32), f(102-110), β -casein f(47-52), f(193-209)	ACE inhibitory	Ong <i>et al.</i> , 2007
Fermented milks			
Sour milk	β -casein f(74-76), f(84-86), κ -casein f(108-111)	Antihypertensive	Nakamura <i>et al.</i> , 1995
Yoghurt (sheep milk)	Active peptides not identified	ACE inhibitory	Chobert <i>et al.</i> , 2005
Dahi	Ser-Lys-Val-Tyr-Pro	ACE inhibitory	Ashar and Chand, 2004

우에도 생성될 수 있다(Hernández-Ledesma *et al.*, 2004; Parrot *et al.*, 2003). 식이로 섭취되는 단백질은 섭취, 소화, 흡수의 단계를 거치는 동안 가수분해된다(Shimizu, 2004; Vermeirssen *et al.*, 2004). 섭취된 단백질은 먼저 pepsin, trypsin 또는 chymosin과 같은 단백질 분해효소에 의해 소화계에서 가수분해되고 이때 다양한 크기의 peptide를 생성하게 된다. 이 peptide는 소장의 상피세포에 존재하는 미세용털 peptidase에 의해서 소화되며 이때 아미노산을 생성한다. 카제인에서 유래한 생리활성 tripeptide로는, IPP (isoleucine-proline-proline)와 VPP(valine-proline-proline)가 있는데, 여러 동물 및 임상실험을 통해 항고혈압 효과가 있음이 증명되었다(Pauliina *et al.*, 2009). 예를 들어, 스위스 치즈에는, 1 kg당 0-94.5 mg에 이르는 IPP나 0-224 mg에 이르는 VPP가 생성될 수 있음이 밝혀졌다(Büikofer *et al.*, 2007).

Foltz 등(2007)은 인간의 혈장 내에 존재하는 IPP의 레벨이 LTP(lactotripeptide)가 풍부한 요구르트의 섭취 후 증가했다고 보고했다. 이는 IPP가 소화에 의한 분해작용으로 인해 선택적으로 방출되고 비분해 순환계에 도달할 수 있다는 것을 처음으로 증명한 예이다. 그러나 흡수되지 않고 방출되는 peptide의 양이 얼마인지, 그리고 균형 잡힌 식사만으로도 peptide가 활성화 될 수 있는지는 알려져 있지 않기 때문에, 생리활성물질의 방출량을 정확하게 예측할 수는 없다(Dziuba *et al.*, 1999).

생리활성 Peptide의 흡수

우유에서 유래한 생리활성 peptide가 체내에서 그대로 흡수된 다음, 소화계로 들어가 신체 전반에 걸쳐 유익한 효과를 나타낸다는 것은 잘 알려져 있는 사실이다(Grimble, 2000; Sienkiewicz-Szlapka *et al.*, 2009a). Ondetti와 Cushman (1982)의 보고에 의하면, 생리활성을 띠는 시퀀스를 포함한 비활성 전구체는 혈관을 통해 체내에 있는 잠재적인 작용부위에 도달할 수 있다. 생리활성을 지닌 peptide는 운반체 매개 수송이나 세포 간 확산에 의해서 흡수되는데, 그 중 세포 간 확산은 원형 그대로의 peptide가 세포의 단분자막을 통과하는데 필요한 주요 기전이다(Shimizu, 2004; Fei *et al.*, 1994). Satake 등(2002)에 의하면, di-, tripeptide의 경우 특정한 운반체(Pep T1)를 통한 능동수송이 가능하나, oligopeptide의 경우 세포간 경로를 통해 능동 수송된다. 세포 간 경로는 peptide 상태를 그대로 보존하고 있기 때문에 비분해 수송경로인 것으로 알려져 있다. 생리활성을 지닌 peptide의 수송에 대한 여러 연구가 진행되어 왔는데, opioid 수용체(Iwan *et al.*, 2008; Sienkiewicz-Szlapka *et al.*, 2009a)와 항고혈압 peptide(Quir *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 2009)의 경우, 상피세포의 단분자막을 통해 수송된다고 보았다. 이들 연구로 볼 때, peptide를 운반

하기 위한 방법에는 peptide의 크기뿐만 아니라 전하, 분자량, 수소결합, 소수성 등에 의해서도 영향을 받을 것이라고 보고되었다(Iwan *et al.*, 2008; Sienkiewicz-Szlapka *et al.*, 2009a).

생리활성 Peptide의 대사작용

단백질의 소화는 위(stomach)에서 시작하여 소장의 관강기(luminal phase)로 들어가게 되며, 이때 소장에서는 다량의 oligopeptide와 소량의 유리아미노산 혼합체가 형성된다. Peptide의 대사는 aminopeptidase와 carboxypeptidase의 작용으로 인해 소장의 용털에서 일어나며, 유리아미노산 및 di-, tripeptide를 포함하고 있는 거대한 복합체를 형성한다(Ganapathy *et al.*, 1999; Ganong, 1997). Gray와 Cooper(1971)에 의하면, 소장 용털막에서 aminopeptidase의 활성이 두드러지며, 위의 효소들과 더불어 소장용털에서는 endopeptidase와 dipeptidase가 활성을 지닌다고 보고되었다. 예를 들어, ACE나 dipeptidyl carboxypeptidase는 proline, phenylalanine 및 leucine을 이용하여 oligopeptide의 C-말단인 dipeptide를 우선적으로 분해한다. Dipeptidyl aminopeptidase IV는 말단으로부터 두 번째 위치에서 proline이나 alanine을 이용하여 oligopeptide의 N-말단으로부터 dipeptide를 방출한다. 따라서 이들 효소로부터 방출된 dipeptide는 일반적으로 X-Pro 타입을 띤다(Ganapathy *et al.*, 1999; Ganong, 1997). Proline과 hydroproline을 포함한 peptide는 일반적으로 소화효소의 작용에도 견디는 것으로 보고되어 있으며, 더 나아가, C-말단에 Pro-Pro를 포함하는 tripeptide는 proline만 특이적으로 분해하는 peptidase의 영향을 받지 않는 것으로 보인다(FitzGerald and Meisel, 2000).

생리활성 Peptide의 기능

심혈관계

아테롤성 동맥경화 및 심근경색과 같은 심장혈관계질환은 이미 전 세계적인 질병으로 알려져 있다(Erdmann *et al.*, 2008). 고혈압의 원인은 일반적으로 RAS(rennin-angiotensin system)에 의한 생화학적 기전으로 설명할 수 있으며(Saxena, 1992), 또 다른 기전으로는 endothelin-converting enzyme system이 있다. Endothelin은 angiotensin-II보다 더욱 강력한 혈관수축제인데(Möller *et al.*, 2008), 세포막경계에서 endothelin-converting enzyme(ECE, E.C. 3.4.24.71.)은 endothelin전구체를 활성화된 endothelin으로 전환시켜 결과적으로는 ECE를 저해하여 혈압을 감소시킨다.

카제인 유래 peptide 류의 혈압강하 효과에 관한 연구에서 Seppo 등(2003)은 21주 동안, Jauhiainen 등(2005)은 10주 동안 *L. helveticus*와 생리활성을 지닌 peptide를 하루에 150 mL씩 피실험자에게 섭취시킨 결과, 혈압강하효과

가 있는 것으로 관찰하였고, 어떠한 부작용도 나타나지 않았다고 보고하였다. 그리고 Nielsen 등(2009)은 발효유 제품의 발효미생물, 발효 pH, 저장시간에 따른 ACE 저해 활성에 관해 연구하였는데, *Streptococcus*, *Lactococcus*와 *Lactobacillus* 속 13종의 유산균을 이용하여 발효유를 제조한 결과, *L. helveticus*에서 2개의 균주와 *Lactococcus* 계통의 균주에서 높은 단백질 분해력을 관찰하였고, ACE 저해활성에 관여하는 peptide 또한 밝혀낼 수 있었다.

Ong과 Shah(2008)는 Cheddar 치즈에서 여러 종류의 프로바이오틱 첨가물과 숙성온도에 따른 ACE 저해 peptide를 규명하였는데, 사용된 starter는 *Lactococci*, *Bifidobacterium longum* 1941, *B. animalis* subsp. *lactis* LAFTI® B94, *L. casei* 279, *L. casei* LAFTI® L26, *L. acidophilus* 4962 및 *L. acidophilus* LAFTI® L10였으며, 6, 12, 24주 동안 각각 4, 8°C에서 숙성시킨 결과 치즈의 ACE 활성은 24주 동안 각각 4, 8°C에서 숙성시켰을 때 최대로 나타났으며, *L. casei* 279, *L. casei* LAFTI® L26이나 *L. acidophilus* LAFTI® L10를 첨가한 치즈는 같은 조건 하에서 유산균을 첨가하지 않은 치즈보다 ACE 저해활성이 높았고, 특히 *L. acidophilus* LAFTI® L10를 첨가한 치즈에서 가장

높은 ACE 저해활성이 관찰되었다. Saito 등(2000)은 7종류의 치즈(8개월 숙성된 Gouda, 24개월 숙성된 Gouda, Emmental, Blue, Camembert, Edam과 Havarti)를 사용하여 SHR(spontaneous hypertension rat)에서 ACE 저해활성을 측정하였는데, 8개월 숙성된 Gouda 치즈에서 ACE 저해활성이 가장 높게 나타났으며, 혈압을 24.7 mmHg 감소시키는 것으로 나타났다. 이 밖에도 카제인에서 유래한 생리활성 peptide인 IPP와 VPP는 SHR에서 고혈압 증상을 감소시킬 수 있으며(Sipola *et al.*, 2001), 고혈압환자의 혈압을 감소시키는 것으로 알려졌다(Hata *et al.*, 1996; Jauhainen *et al.*, 2005).

가장 최근에 연구된 카제인 유래 peptide에 대한 항고혈압 효과는 del Mar Contreras 등(2009)에 의한 것으로, SHR을 이용하여 ACE 저해활성과 항고혈압 기능을 가진 카제인 유래 peptide의 시퀀스를 규명했는데, α_{s1} -카제인의 f(90-94)(RYLGY), f(143-149)(AYFYPEL), α_{s2} -카제인의 f(89-95)(YQKFPQY)로 알려졌다. 이 외에도 항고혈압 기능을 가진 카제인 유래의 다양한 생리활성 peptide의 예를 Table 2에 제시하였다.

고혈압이 전세계적인 질병으로 인식됨에 따라 고혈압을

Table 2. Antihypertensive peptide sequences in the primary structures of caseins (Silva and Malcata, 2005)

Casein type	Peptide sequence	Amino-acid segment	References
α_{s1} (bovine)	23-24	FF	Maruyama and Susuki, 1982; Maruyama <i>et al.</i> , 1987a; Meisel and Schlimme, 1994
	23-27	FFVAP	Maruyama and Susuki, 1982; Maruyama <i>et al.</i> , 1987a; Meisel and Schlimme, 1994
	102-109	KKYKVPQ	Gomez-Ruiz <i>et al.</i> , 2002
	142-147	LAYFYP	Pihlanto-Leppälä <i>et al.</i> , 1998
	157-164	DAYPSGAW	Pihlanto-Leppälä <i>et al.</i> , 1998
	194-199	TTMPLW	Maruyama and Susuki, 1982; Maruyama <i>et al.</i> , 1987a; Meisel and Schlimme, 1994; Pihlanto-Leppälä <i>et al.</i> , 1998
	90-94	RYLGY	del Mar Contreras <i>et al.</i> , 2009*
α_{s2} (bovine)	143-149	AYFYPEL	del Mar Contreras <i>et al.</i> , 2009*
	174-179	FALPQY	Tauzin <i>et al.</i> , 2002
	174-181	FALPQYLK	Tauzin <i>et al.</i> , 2002
	189-197	AMKPWIQPK	Maeno <i>et al.</i> , 1996
	189-193	AMKPW	Maeno <i>et al.</i> , 1996
	190-197	MKPWIQPK	Maeno <i>et al.</i> , 1996
	198-202	TKVIP	Maeno, <i>et al.</i> , 1996
β (bovine)	89-95	YQKFPQY	del Mar Contreras <i>et al.</i> , 2009*
	74-76	IPP	Nakamura <i>et al.</i> , 1995a
	84-86	VPP	Nakamura <i>et al.</i> , 1995a
	108-113	EMPFPK	Pihlanto-Leppälä <i>et al.</i> , 1998
	177-183	AVPYPQR	Maruyama and Susuki, 1982; Maruyama <i>et al.</i> , 1987a; Meisel and Schlimme, 1994
	193-198	YQEPVL	Pihlanto-Leppälä <i>et al.</i> , 1998
	193-202	YQEPVLGPVRGPFPI	Maruyama and Susuki, 1982; Maruyama <i>et al.</i> , 1987a; Meisel and Schlimme, 1994
k (bovine)	199-204	GPVRGPFPIIV	Nakamura <i>et al.</i> , 1995b
	108-110	IPP	Nakamura <i>et al.</i> , 1995a
γ (bovine)	108-113	EMPFPK	Perpetuo <i>et al.</i> , 2003
	114-121	YPVEPFTE	Perpetuo <i>et al.</i> , 2003

*: Those references from del Mar Contreras *et al.*, 2009 are added additionally into the original table

예방하기 위한 방법으로 체중감소, 금연, 운동 등과 같은 생활패턴 개선이 요구되고 있다. 또한 항고혈압 peptide가 함유된 기능성 유제품들은 경미한 고혈압환자의 증상개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

신경계

신경계에 관련된 연구에서 유제품에 있는 peptide는 신경계에 영향을 준다는 것이 보고되었고, 이는 opioid 유사 peptide로 알려져 있다(Silva and Malcata, 2005). Opioid 유사 peptide는 endorphin, enkephalins와 dynomorphin이 있는데, 이는 3개의 단백질 전구체 즉, proopi melanocortin, preemkephalin과 prodynorphin에서 각각 유래된 것이다(Silva and Malcata, 2005). Opioid는 opioid 수용체와 결합하여 모르핀과 같은 효과를 나타내는데(Jauhiainen and Korpela, 2007), opioid peptide는 agonistic 혹은 antagonistic한 활성을 지닌다고 알려져 있다(Silva and Malcata, 2005)(Table 3). Opioid계 활성은 카제인에서 유래한 peptide의 단편에서 찾아볼 수 있는데(Teschemacher, 2003), 일반적으로 α -, β -카제인의 단편은 agonistic한 활성을 지니는데, κ -카제인의 단편은 antagonistic한 활성을 지닌다고 알려져 있다(Clare and Swaisgood, 2000). Agonistic한 opioid peptide의 예로는 β -casomorphins(BCMs)를 들 수 있는데, 마취효과 및 면역조절기능이 있으며, 영양소의 흡수, 호흡, 혈압, 호르몬 및 효소의 수준을 조절하는 기능을 가지고 있다(Teschemacher, 2003). 이외에도 BCMs는 유아돌연사(sudden infant death syndrome: SIDS), 자폐증, 산후우울증, 그리고 특정한 형태의 알러지 반응과 밀접한 관계가 있다(Reichelt and Knivsberg, 2003; Sun *et al.*, 2003). BCMs와 그 전구체는 미니돼지의 십이지장 유미죽(chyme), 새로 태어난 송아지의 혈장, 그리고 우유 또는 카제인을 경구 섭취한 인간의 소장에서 발견될 수 있다(Meisel and FitzGerald, 2003; Meisel and FitzGerald, 2000). Opioid

peptide 단편은 성숙한 포유동물의 혈장에서는 발견되지 않은 사실로 볼 때, 오직 신생아의 소장에서만 casomorphin이 흡수될 수 있을 것이라고 사료된다. 예를 들어 antagonistic한 opioid peptide는 식세포를 자극함으로써 주요 방어 시스템에서 중요한 역할을 하고, 또한 영아의 체내에서 영양소의 흡수를 조절하는 역할을 한다(Kostyra *et al.*, 2004).

Sienkiewicz-Szlapka 등(2009b)은 다양한 치즈 종류에서 agonistic하거나 antagonistic한 opioid peptide의 양을 측정하였다. Agonistic한 opioid peptide로는 BCM-5와 BCM-7, antagonistic한 opioid peptide로는 casoxin-6, casoxin-C와 lactoferroxin A로 관찰되었고, 치즈의 종류로는 3개의 반경질치즈(Edamski, Gouda, Kadztelan)와 2개의 곰팡이로 숙성한 치즈(Brie, Rolkpol)로 실험하였다. 그 결과 BCM-5와 BCM-7은 곰팡이로 숙성한 치즈에서 높게 나타났고, antagonistic한 opioid peptide 활성은 반경질 치즈에서 높게 나타났다. 특히 Gouda 치즈의 경우 그 활성이 두드러졌다. BCM-5와 -7은 모든 치즈 시료에서 casoxin-6, casoxin-C와 lactoferroxin A와 함께 존재하였다. 이 밖에도 opioid peptide는 유청 단백질에서도 발견되는데, 그 예로 α -lactalbumin에서 유래한 α -lactorphin이 있다(Jauhiainen and Korpela, 2007).

Opioid peptide의 임상적인 활용에는 아직도 연구 중에 있다. 그러나 앞서 서술한 실험결과를 근거로 식품의 질 향상에 새로운 지표로서 기능성식품에 이용될 가능성이 높다고 본다.

면역계

인체는 외부의 해로운 물질이나 균에 대해 방어하는 면역체계를 갖고 있는데, 이 면역체계는 매우 복잡하게 이루어져 있으며 생명 유지에 중요한 부분이다. 우리가 일상 생활에서 쉽게 섭취할 수 있는 우유나 유제품에서 유래한 생리활성 peptide는 면역체계에 긍정적인 효과를 나타내고 있으며, 이에 대한 연구가 지속적으로 이루어지고 있다.

모유나 우유의 카제인이 효소에 의해 분해되어 면역조절 능력을 가진 peptide가 생성되는데, 미생물이나 바이러스 감염에 직접적으로 영향을 미치는 인자를 지니고 있어 능동면역을 가능케 한다. Jollès 등(1981)은 처음으로 모유의 trypsin에 의한 가수분해물이 면역조절 능력을 지니고 있다는 것을 증명하였다. 우유의 α -카제인의 f(1-32)와 β -카제인의 f(1-28)로 구성된 CPP-III는 lipopolysaccharide, phytohaemagglutinin과 concavalin A로부터 유래된 증식적 반응을 강화시키는데, CPP-III가 림프액, 또는 장내 IgG (Immunoglobulin G), IgA(Immunoglobulin A)에 미치는 영향에 관한 연구에서 CPP의 사용이 점막 면역 강화에 큰 이점이 있다는 것이 증명되었다(Otani *et al.*, 2000).

Matar 등(2001)은 *L. helveticus*가 발효유에 미치는 영향

Table 3. Opioid peptides sequence in the primary structure of caseins (Silva and Malcata, 2005)

Casein	Peptide sequence	Amino-acid segment	References
Agonistic peptides			
α_{s1} (bovine)	90-05	RYLGYL	Loukas <i>et al.</i> , 1983
	90-96	RYLGYLE	Loukas <i>et al.</i> , 1983
	91-95	YLGYL	Loukas <i>et al.</i> , 1983
β (human)	41-44	YPSFQ	Fiat <i>et al.</i> , 1993
γ (casein)	114-121	YPVEPFTE	Perpetuo <i>et al.</i> , 2003
Antagonistic peptides			
κ (bovine)	35-41	YPSYGLN	Xu, 1998
	58-61	YPYY	Xu, 1998
	24-34	YIPIQYVLSR	Xu, 1998
	158-164	EINTVQV	Xu, 1998

에 대한 연구에서 유산균은 생리활성 peptide의 생성에 관여하므로 면역 반응의 조절인자로서 중요한 역할을 한다는 것을 밝혀냈지만, 적어도 유산균이 면역 체계를 강화시키는 기전에 대해서는 명확하게 밝혀내지 못하였다. 그러나 발효유가 면역을 강화하고 항암 성질을 지닌 생리활성 peptide를 생성한다는 것에 대해서는 긍정적으로 받아들여지고 있다. 이러한 우유의 단백질은 주로 bifidobacteria와 유산균의 성장을 촉진하고 소화기관의 감염증 극복에도 도움을 준다(Brück *et al.*, 2003). 면역체계를 유지하는 장점막에서는 살아있는 유산균 유지가 필수적인데, 장내에서 항균물질 생산을 통해 장내 상피세포에 유해균이 부착되는 것을 억제함으로써 장점막에 유익한 환경을 유지해주는 역할을 한다(Ruiz *et al.*, 2005). 또한 카제인의 가수분해물은 T세포의 반응과 관련이 있는데(Phelan *et al.*, 2009), 이 세포는 후천성 면역에서 중요한 역할을 한다. *Lactobacillus* 속 균주를 이용하여 실험한 결과, 이 두 세포의 균형이 깨지게 되면 질병이 유도되지만, 균형을 유지할 경우에는 알러지에 효과가 있는 것으로 보고되었다(Cross *et al.*, 2002). 또한 *Lactobacillus*에 열을 가하여 얻어진 사균체를 이용하여 동물 실험한 결과 IL-12(Interleukin 12)의 생성을 촉진함에 따라 IgE의 생성을 억제하여 식품 알러지뿐만 아니라 종양세포 증식을 억제한다고 보고되었다(Sashihara *et al.*, 2006).

앞서 언급했듯이 일상생활에서 섭취할 수 있는 우유나 유제품의 기능성 peptide는 면역조절에 있어 긍정적인 효과가 계속적으로 연구되고 있고, 생명체 유지에 있어 가장 중요한 부분 중 하나이기 때문에 면역조절기능 강화제품을 개발하여 고부가가치 산업 창출에 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

영양계

영양학적인 관점에서 본 생리활성 peptide로는 CPP와 GMP(glycomacropeptide)를 들 수 있다. Phosphopeptide라는 용어는 1950년대에 Mellander에 의해 처음 주창되었으며, 이는 카제인에서 유래한 인산화된 peptide를 의미하며, 구루병에 걸린 유아에서 비타민 D와 함께 뼈의 석회화를 개선시킬 수 있다고 알려졌다(Silva and Malcata, 2005).

또한 철분 부족은 전세계적인 영양적 문제 중 하나인데, 우유를 비롯한 식이로 섭취되는 철분의 생리활성이 낮은 것이 원인으로 작용한다(Ait-Oukhatir *et al.*, 2002). 카제인이 가수분해되면 낮은 분자량의 CPP를 생성하게 되며, 이 CPP에 철분이 결합되면 위장에서 용해도를 높이는 반면, 흡수도가 낮은 고분자 철수산화물의 형성을 방해하게 된다. 최근에는 Herrgard 치즈에서도 CPP가 발견되었다(Ardö *et al.*, 2007).

GMP는 효소적인 치즈제조과정에서 형성되는데, 우유에 렌넷을 첨가하면 chymosin의 작용으로 인해 우유 단백질

은 두 부분으로 나누어 진다. 이때, 1-105잔기를 para-k-카제인이라 하고 나머지 106-169잔기를 GMP라 하며, 이는 유청으로 용출된다. GMP는 분자량이 크기 때문에 그 자체로 흡수될 수 없어서 분자량이 작은 peptide로 분해된 후 흡수되어야 한다. GMP의 아미노산 구성성분은 방향족 아미노산이 부족한 반면, 곁가지 사슬을 가진 아미노산이 많다. GMP는 또한 칼슘, 철 및 아연의 흡수에 도움을 주는 것으로 알려져 있다. Kelleher 등(2003)은 Rh(Rhesus) 인자를 가진 어린 원숭이에게 GMP와 조제용 분유의 α -lactalbumin 성분을 보충했을 때에 나타나는 변화를 관찰하였는데, 양쪽 모두에서 아연흡수의 증가를 관찰하였다. 최근에 García-Nebot 등(2009)에 의한 연구 결과에 의하면, 우유나 CPP를 과일음료와 함께 섭취 시 철의 보관 및 유지 수송 활성에 큰 도움을 준다고 하였다.

영양적인 측면 이외에도 충치예방에 있어 유제품에 포함된 생리활성 peptide에 관한 기능성 연구가 진행되어 왔는데, CPP와 GMP는 충치의 원인균인 *Streptococcus mutans*나 다른 종의 균 증식을 저해하여 치약의 성분으로 활용되고 있다(Aimutis, 2004). Andrews 등(2006)에 의하면, CPP는 칼슘과 결합하면 산성으로 되는 것을 완화해주어 산의 공격으로부터 치아를 보호해 주고, 치아표면에 보호 피막을 형성하고 미생물 세포의 점착력을 방해하는 것으로 알려져 있다.

이와 같이 여러 연구 결과를 바탕으로 우유와 유제품의 섭취가 영양학적인 관점에서 볼 때 필수 불가결하다고 볼 수 있으며, 따라서 일상생활에서의 꾸준한 섭취가 중요하다고 하겠다.

결론

우유 및 유제품에 함유된 카제인 유래 생리활성 peptide가 생체 내에서 심혈관계, 신경계, 면역계 및 영양계에 걸쳐 중요한 기능을 한다는 사실이 밝혀진 이래로 현재까지 이에 대한 여러 연구가 진행되어 왔다. 심혈관계에서는 ACE 저해활성을 통해 고혈압을 예방하고 신경계에서는 opioid의 유사물질로 작용하여 모르핀과 같은 효과를 지니며, 면역계에서는 면역강화에 도움을 주고, 마지막으로 영양계에서는 대표적으로 GMP와 CPP가 무기질 흡수에 도움을 준다고 알려져 있다. 더불어 가공기술의 발달로 우유 및 유제품에 특정한 생리활성을 강화한 기능성식품들이 개발되고 있는 실정이다. 이런 기능적인 측면도 중요하지만 안전성의 측면 또한 고려해볼 필요가 있다. 기능성 소재의 첨가에 있어 그 제한을 두기도 하는데, 이는 국제적인 추세로서 유제품에서 유래한 생리활성 peptide가 생체 내에서 일으킬 수 있는 부작용, 예를 들어, 독성물질의 발생 및 알러지 반응과 같은 위험성이 제기되기도 하기 때문이다. 따라서 앞으로는 기능성식품의 생체 내 안

전성에 대한 연구도 필요할 것으로 보인다.

요 약

카제인은 우유에서 단백질의 주요 급원으로 알려져 있으며, 이에 따라 카제인 유래 생리활성 펩타이드와 체내 작용에 대한 연구들이 지속적으로 보고되어 왔다. 카제인은 모체단백질 내에서는 불활성을 띄지만 여러 종류의 protease의 작용, 미생물 발효 시 효소적인 가수분해 및 위장에서의 소화를 거치면서 모체단백질에서 방출되어 활성을 띄게 된다. 카제인은 체내에서 흡수된 후 여러 생리활성을 지니게 된다. 먼저 심장혈관계에서 카제인 유래 펩타이드는 ACE 저해활성을 가지므로 고혈압을 예방하는데 도움을 줄 것으로 기대된다. 신경계에서는 opioid 유사물질로서 모르핀과 같은 효과를 나타낸다. 면역계에서는 여러 측면에서 면역기능을 조절한다고 알려져 있으며, 마지막으로 영양계에서는 대표적으로 CPP(caseinophosphopeptide) 및 GMP(glycomacropeptide)가 칼슘, 철과 같은 무기질 흡수에 도움을 준다. 이와 같이 카제인 유래 펩타이드의 다양한 생리활성은 다양한 기능성 유제품에 적용되어왔다. 본고에서는 생리활성 펩타이드의 생성, 흡수 및 흡수기전과 이들의 대표적인 생리활성기능 중 심혈관, 신경, 면역 및 영양에 미치는 영향에 대해 논하였다.

참고문헌

본 연구는 Brain Korea 21사업의 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사 드립니다.

참고문헌

1. Aimutis, W. R. (2004) Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. *J. Nutr.* **134**, 989S-995S.
2. Ait-Oukhtar, N., Peres, J. M., Bouhallab, S., Neuville, D., Bureau, F., Bouvard, G., Arhan, P., and Bougle, D. (2002) Bioavailability of caseinophosphopeptide-bound iron. *J. Lab. Clin. Med.* **140**, 290-294.
3. Andrews, A. T., Williams, R. J. H., Brownsell, V. L., Isgrove, F. H., Jenkins, K., and Kanekanian, A. D. (2006) β -CN-5P and β -CN-4P components of bovine milk proteose-peptone: large scale preparation and influence on the growth of cariogenic microorganisms. *Food Chem.* **96**, 234-241.
4. Ardö, Y., Lilbæk, H., Kristiansen, K. R., Zakora, M., and Otte, J. (2007) Identification of large phosphopeptides from β -casein that characteristically accumulate during ripening of the semi-hard cheese Herrgård. *Int. Dairy J.* **17**, 513-524.
5. Ashar, M. N. and Chand, R. (2004) Fermented milk containing ACE-inhibitory peptides reduces blood pressure in middle aged hypertensive subjects. *Milchwissenschaft* **59**, 363-366.
6. Blondelle, S. E. and Lohner, K. (2000) Combinatorial libraries: a tool to design antimicrobial and antifungal peptide analogues having lytic specificities for structure-activity relationship studies. *Biopolymers* **55**, 74-87.
7. Brück, W. M., Graverholt, G., and Gibson, G. R. (2003) A two-stage continuous culture system to study the effect of supplemental α -lactalbumin and glycomacropeptide on mixed cultures of human gut bacteria challenged with enteropathogenic *Escherichia coli* and *Salmonella* serotype Typhimurium. *J. Appl. Microbiol.* **95**, 44-53.
8. Büikofer, U., Meyer, J., Sieber, R., and Wechsler, D. (2007) Quantification of the angiotensin-converting enzyme-inhibiting tripeptides Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro in hard, semi-hard and soft cheeses. *Int. Dairy J.* **17**, 968-975.
9. Clare, D. A. and Swaisgood, H. E. (2000) Bioactive milk peptides: a prospectus. *J. Dairy Sci.* **83**, 1187-1195.
10. Cross, M. L., Mortensen, R. R., Kudsk, J., and Gill, H. S. (2002) Dietary intake of *Lactobacillus rhamnosus* HNOO1 enhances production of both Th1 and Th2 cytokines in antigen-primed mice. *Med. Microbiol. Immunol.* **191**, 49-53.
11. del Mar Contreras, M., Carrón, R., Montero, M. J., Ramos, M., and Recio, I. (2009) Novel casein-derived peptides with antihypertensive activity. *Int. Dairy J.* **19**, 566-573.
12. Dziuba, J., Minkiewicz, P., Nalecz D., and Iwaniak, A. (1999) Database of biologically active peptide sequences. *Nahrung*. **43**, 190-195.
13. Erdmann, K., Cheung, B. W., and Schröder, H. (2008) The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *J. Nutr. Biochem.* **19**, 643-654.
14. Fei, Y. J., Kanai, Y., Nussberger, S., Ganapathy, V., Leibach, F. H., Romero, M. F., Singh, S. K., Boron, W. F., and Hediger, M. A. (1994) Expression cloning of a mammalian proton-coupled oligopeptide transporter. *Nature* **368**, 563-566.
15. Ferranti, P., Traisci, M. V., Picariello, G., Nasi, A., Boschi, V., Siervo, M., Falconi, C., Chianese, L., and Addeo, F. (2004) Casein proteolysis in human milk: tracing the pattern of casein breakdown and the formation of potential bioactive peptides. *J. Dairy Res.* **71**, 74-87.
16. FitzGerald, R. J. and Meisel, H. (2000) Milk protein-derived peptide inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme. *Br. J. Nutr.* **84**, 33-37.
17. FitzGerald, R. J. and Murray, B. A. (2006) Bioactive peptides and lactic fermentations. *Int. J. Dairy Technol.* **59**, 118-125.
18. Foltz, M., Meynen, E. E., Bianco, V., van Platerink, C., Konig, T. M. M.G., and Kloek, J. (2007) Angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from a lactotripeptide-enriched milk beverage are absorbed intact into the circulation. *J. Nutr.* **137**, 953-958.
19. Fox, P. F. and Brodtkorb, A. (2008) The casein micelle: historical aspects, current concepts and significance. *Int. Dairy J.* **18**, 677-684.
20. Fuglsang, A., Nilsson, D., and Nyborg, N. C. B. (2003) Characterization of new milk-derived inhibitors of angiotensin

- converting enzyme *in vitro* and *in vivo*. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **18**, 407-412.
21. Ganapathy, V., Leibach, F. H., and Yamada, T. (1999) Protein digestion and assimilation. In: Textbook of Gastroenterology. 3rd ed. Yamada, T. (ed). Lippincott Williams and Wilkins ilkins, Philadelphia, PA, USA, pp. 456-467.
 22. Ganong, W. F. (1997) Section V. In review of medical physiology, Appleton and Lange, Stamford, CT, USA , pp. 437-481.
 23. García-Nebot, M. J., Alegría, A., Barberá, R., Clemente, G., and Romero, F. (2009) Addition of milk or caseinophosphopeptides to fruit beverages to improve iron bioavailability? *Food Chem.* doi:10.1016/j.foodchem.2009.06.005.
 24. Gobbeti, M., Ferranti, P., Smacchi, E., Goffredi, F., and Addeo, F. (2000) Production of angiotensin-I-converting-enzyme-inhibitory peptides in fermented milks started by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* SS1 and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FT4. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 3898-3904.
 25. Gobbeti, M., Stepaniak, L., De Angelis, M., Corsetti, A., and Cagno, R. D. (2002) Latent bioactive peptides in milk proteins: proteolytic activation and significance in dairy processing. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **42**, 223-239.
 26. Gray, G. M. and Cooper, H. L. (1971) Protein digestion and absorption. *Gastroenterology* **61**, 535-544.
 27. Grimble, G. K. (2000) Mechanisms of peptide and amino acid transport and their regulation. Fürst, P., and Young, V. (eds.), In proteins, peptides and amino acids in enteral nutrition, Karger and Nestec, Basel, Switzerland, pp. 63-88.
 28. Hata, Y., Yamamoto, M., Ohni, M., Nakajima, K., Nakamura, Y., and Takano, T. (1996) A placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* **64**, 767-771.
 29. Haug, A., Høstmark, A. T., and Harstad, O. M. (2007) Bovine milk in human nutrition-a review. *Lipids Health Dis.* **6**, 25-41.
 30. Hernández-Ledesma, B., Amigo, L., Ramos, M., and Recio, I. (2004) Angiotensin converting enzyme inhibitory activity in commercial fermented products. Formation of peptides under simulated gastrointestinal digestion. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 1504-1510.
 31. Iwan, M., Jarmolowska, B., Bielkowicz, K., Kostyra, E., Kostyra, H., and Kaczmarek, M. (2008) Transport of μ -opioid receptor agonists and antagonist peptides across Caco-2 monolayer. *Peptides* **29**, 1042-1047.
 32. Jauhiainen, T. and Korpela, R. (2007) Milk peptides and blood pressure. *J. Nutr.* **137**, 825S-829S.
 33. Jauhiainen, T., Vapaatalo, H., Poussa, T., Kyronpalo, S., Ras-mussen, M., and Korpela, R. (2005) *Lactobacillus helveticus* fermented milk lowers blood pressure in hypertensive subjects in 24-h ambulatory blood pressure measurement. *Am. J. Hypertens.* **18**, 1600-1605.
 34. Jollès, P., Parker, F., Floch, F., Migliore, D., Alliel, P., Zerial, A., and Werner, G. H. (1981) Immunostimulating substances from human casein. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **3**, 363-370.
 35. Juillard, V., Guillot, A., Le Bars, D., and Gripon, J. C. (1998) Specificity of milk peptide utilization by *Lactococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 1230-1236.
 36. Kelleher, S. L., Chatterton, D., Nielsen, K., and Lonnerdal, B. (2003) Glycomacropeptide and α -lactalbumin supplementation of infant formula affects growth and nutritional status in infant rhesus monkeys. *Am. J. Clin. Nutr.* **77**, 1261-1268.
 37. Kilara, A. and Panyam, D. (2003) Peptides from milk proteins and their properties. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **43**, 607 - 633.
 38. Korhonen, H. (2009) Milk-derived bioactive peptides: from science to applications. *J. Funct. Foods* **1**, 177-187.
 39. Korhonen, H. and Pihlanto-Leppälä, A. (2003a) Bioactive peptides: novel applications for milk proteins. *Appl. Biotech. Food Sci. Policy* **1**, 133-144.
 40. Korhonen, H. and Pihlanto-Leppälä, A. (2003b) Food-derived bioactive peptides-opportunities for designing future foods. *Curr. Pharm. Des.* **9**, 1297-1308.
 41. Korhonen, H. and Pihlanto-Leppälä, A. (2004) Milk-derived bioactive peptides: formation and prospects for health promotion. In hand-book of functional dairy products. Functional foods and nutraceuticals series 6.0, Shortt, C. and O'Brien, J. (eds.), CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 109-124.
 42. Kostyra, E., Sienkiewicz-Szlapka, E., Jarmolowska, B., Krawczuk, S., and Kostyra, H. (2004) Opioid peptides derived from milk proteins. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* **13**, 25-35.
 43. Leclerc, P. L., Gauthier, S. F., Bachelard, H., Santure, M., and Roy, D. (2002) Antihypertensive activity of casein-enriched milk fermented by *Lactobacillus helveticus*. *Int. Dairy J.* **12**, 995-1004.
 44. Matar, C., Valdez, J. C., Medina, M., Rachid, M., and Perdigon, G. (2001) Immunomodulating effects of milks fermented by *Lactobacillus helveticus* and its non-proteolytic variant. *J. Dairy Res.* **68**, 601-609.
 45. Meisel, H. and FitzGerald, R. J. (2003) Biofunctional peptides from milk proteins: mineral binding and cytomodulatory effects. *Curr. Pharm. Des.* **9**, 1289-1295.
 46. Meisel, H. and FitzGerald, R. J. (2000) Opioid peptides encrypted in intact milk protein sequences. *Br. J. Nutr.* **84**, 27-31.
 47. Möller, N. P., Scholz-Ahrens, K. E., Roos, N., and Schrezen-meir, J. (2008) Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects. *Eur. J. Nutr.* **47**, 171-182.
 48. Nielsen, M. S., Martinussen, T., Flambard, B., Sørensen, K. I., and Otte, J. (2009) Peptide profiles and angiotensin I converting enzyme inhibitory activity of fermented milk products: effect of bacterial strain, fermentation pH, and storage time. *Int. Dairy J.* **19**, 155-165.
 49. Ondetti, M. A. and Cushman, D. W. (1982) Enzymes of the renin-angiotensin system and their inhibitors. *Annu. Rev. Biochem.* **51**, 283-308.
 50. Ong, L. and Shah, N. P. (2008) Release and identification of angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides as influenced by ripening temperatures and probiotic adjuncts in

- Cheddar cheeses. *LWT Food Sci. Technol.* **41**, 1555-1566.
51. Otani, H., Kihara, Y., and Park, M. (2000) The immunoenhancing property of a dietary casein phosphopeptide preparation in mice. *Food Agr. Immunol.* **12**, 165 - 173.
 52. Parrot, S., Degraeve, P., Curia, C., and Martial-Gros, A. (2003) *In vitro* study on digestion of peptides in Emmental cheese: analytical evaluation and influence on angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. *Nahrung.* **47**, 87-94.
 53. Pauliina, J., Jauhiainen, T., Korpela, R., and Vapaatalo, H. (2009) Milk protein-derived bioactive tripeptides Ile-Pro-Pro and Val-Pro-Pro protect endothelial function *in vitro* in hypertensive rats. *J. Funct. Foods* **1**, 266-273.
 54. Phelan, M., Aherne, A., FitzGerald, R. J., and O'Brien, N. M. (2009) Casein-derived bioactive peptides: biological effects, industrial uses, safety aspects and regulatory status. *Int. Dairy J.* **19**, 643-654.
 55. Pihlanto-Leppälä, A., Marnila, P., Hubert, L., Rokka, T., Korhonen, H. J. T., and Karp, M. (1999) The effect of α -lactalbumin and β -lactoglobulin hydrolysates on the metabolic activity of *Escherichia coli* JM103 *J. Appl. Microbiol.* **87**, 540-545.
 56. Quir, A., Dávalos, A., Lasunci, M. A., Ramos, M., and Recio, I. (2008) Bioavailability of the antihypertensive peptide LHLPLP: transepithelial flux of HLPLP. *Int. Dairy J.* **18**, 279-286.
 57. Reichelt, K. L. and Knivsberg, A. M. (2003) Can the pathophysiology of autism be explained by the nature of the discovered urine peptides? *Nutr. Neurosci.* **6**, 19-28.
 58. Ruiz, P. A., Hoffmann, M., Szczesny, S., Blaut, M., and Haller, D. (2005) Innate mechanisms for *Bifidobacterium lactis* to activate transient pro-inflammatory host responses in intestinal epithelial cells after the colonization of germ-free rats. *Immunology* **115**, 441-450.
 59. Saito, T., Nakamura, T., Kitazawa, H., Kawai, Y., and Itoh, T. (2000) Isolation and structural analysis of antihypertensive peptides that exist naturally in Gouda cheese. *J. Dairy Sci.* **83**, 1434-1440.
 60. Sashihara, T., Sueki, N., and Ikegami, S. (2006) An analysis of the effectiveness of heat-killed lactic acid bacteria in alleviating allergic diseases. *J. Dairy Sci.* **89**, 2846-2855.
 61. Satake, M., Enjoh, M., Nakamura, Y., Takano, T., Kawamura, Y., Arai, S., and Shimizu, M. (2002) Transepithelial transport of the bioactive tripeptide, Val-Pro-Pro, in human intestinal Caco-2 cell monolayers. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **66**, 378-384.
 62. Saxena, P. R. (1992) Interaction between the renin-angiotensin-aldosterone and sympathetic nervous systems. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **19 Suppl 6**, S80-8.
 63. Seppo, L., Jauhiainen, T., Poussa, T., and Korpela, R. (2003) A fermented milk high in bioactive peptides has a blood pressure-lowering effect in hypertensive subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* **77**, 326-330.
 64. Shimizu, M. (2004) Food-derived peptides and intestinal functions. *Bio. Factors* **21**, 43-47.
 65. Sienkiewicz-Szlapka, E., Jarmolowska, B., Krawczuk, S., Kostyra, E., Kostyra, H., and Bielikowicz, K. (2009a) Transport of bovine milk-derived opioid peptides across a Caco-2 monolayer. *Int. Dairy J.* **19**, 252-257.
 66. Sienkiewicz-Szlapka, E., Jarmolowska, B., Krawczuk, S., Kostyra, E., Kostyra, H., and Iwan, M. (2009b) Contents of agonistic and antagonistic opioid peptides in different cheese varieties. *Int. Dairy J.* **19**, 258-263.
 67. Silva, S. V. and Malcata, F. (2005) Caseins as source of bioactive peptides. *Int. Dairy J.* **15**, 1-15.
 68. Sipola, M., Finckenberg, P., Korpela, R., Vapaatalo, H., and Nurminen, M. L. (2002) Effect of long-term intake of milk products on blood pressure in hypertensive rats. *J. Dairy Res.* **69**, 103-111.
 69. Sipola, M., Finckenberg, P., Santisteban, J., Korpela, R., Vapaatalo, H., and Nurminen, M. L. (2001) Long-term intake of milk peptides attenuates development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *J. Physiol. Pharmacol.* **52**, 745-754.
 70. Sun, H., Liu, D., Li, S., and Qin, Z. (2009) Transepithelial transport characteristics of the antihypertensive peptide, Lys-Val-Leu-Pro-Val-Pro, in human intestinal Caco-2 cell monolayers. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **73**, 293-298.
 71. Sun, Z., Zhang, Z., Wang, X., Cade, R., Elmir, Z., and Fregly, M. (2003) Relation of β -casomorphin to apnea in sudden infant death syndrome. *Peptides* **24**, 937-943.
 72. Teschemacher, H. (2003) Opioid receptor ligands derived from food proteins. *Curr. Pharm. Des.* **9**, 1331-1344.
 73. Ueno, K., Mizuno, S., and Yamamoto, N. (2004) Purification and characterization of an endopeptidase that has an important role in the carboxyl terminal processing of antihypertensive peptides in *Lactobacillus helveticus* CM4. *Lett. Appl. Microbiol.* **39**, 313-318.
 74. Vermeirssen, V., Camp, J. V., and Verstraete, W. (2004) Bioavailability of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. *Br. J. Nutr.* **92**, 357-366.
 75. Yamamoto, N., Akino, A., and Takano, T. (1994) Antihypertensive effect of the peptides derived from casein by an extracellular proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790. *J. Dairy Sci.* **77**, 917-922.

(Received 2009.10.8/Revised 2009.11.27/Accepted 2009.12.1)