



# 饲料外源酶与动物内源消化酶的互作效应及机制研究

■ 南京农业大学动物科技学院 / 王恬 蒋正宇 周岩民 张莉莉



王恬, 动物营养与饲料科学专业博士, 毕业于香港大学, 教授, 博士生导师。主要研究方向为动物生长的营养调控; 饲料源生物活性物质(饲料添加剂)的开发与应用; 新生动物营养生理及发育生理等, 现任南京农业大学动物科技学院院长。

消化道的发育程度决定了动物的生长速度, 消化道发育主要表现在消化器官组织形态上的变化和消化生理功能上的成熟。消化功能的发育, 很大程度上通过增加胰腺、肝脏及肠黏膜合成或分泌的消化液量、酶活性来实现。其中, 胰液中含有降解主要营养物质的各种酶类, 如胰淀粉酶、胰蛋白酶、糜蛋白酶、弹性蛋白酶、胰脂肪酶和辅脂酶, 具有动物消化食物最主要、消化力最强的酶系, 其活性高低与动物的消化机能直接相关; 胰液酶系的活力强弱被认为是衡量机体营养物质消化能力的极佳指标(Krogdahl等, 1989), 也是动物营养学许多试验研究的主要酶类。

Lee等(1984)报道, 随着日粮蛋白质的增加, 日粮蛋白质消化率与糜蛋白酶活性呈正相关( $r=0.998$ )。阮晖等(2001)肉鸡试验也表明, 日增重与小肠内消化酶(总蛋白水解酶、脂肪酶、淀粉酶)活性呈正相关( $r=0.745$ 、 $0.780$ 、 $0.825$ )。动物消化道酶分泌量不足和酶活性偏低在很大程度上限制了营养物质的消化, 影响动物生长和生产性能潜力的发挥。许多试验证实, 饲用酶可促进动物生长, 改善饲料效率, 但一些研究结果也表明, 添加外源消化酶未见有明显的效果, 甚至降低了动物的生产性能(Marsman等, 1997; Simbaya等, 1996; Tetsuya等, 2002)。进一步研究发现外源酶能影响动物消化酶的分泌, 并可改变其活性。因此, 本文探讨饲料外源酶与动物内源消化酶的互作效应, 并分析其可能的作用机制, 为进一步研究饲料酶制剂作用机理和合理应用提供参考依据。

## 1 外源酶与消化道内酶活性

饲料酶制剂是一类能直接参与养消化过程的饲料添加剂, 它们的添加使用可能影响动物内源消化酶的分泌与生物活性。



### 1.1 外源性非消化酶与内源酶活性

非消化酶类通过破裂植物细胞壁,释放养分,或者消除饲料中抗营养因子对肠道、胰腺、肝脏等消化腺合成和分泌的不利作用,影响消化道内酶活性,这方面的报道以NSP酶为主。Almirall等(1995)肉鸡试验表明,大麦饲料中添加-葡聚糖酶能明显提高小肠淀粉酶、脂肪酶和胰蛋白酶的活性。在整粒大麦日粮中添加木聚糖酶也发现,糜蛋白酶和脂肪酶的活性得到显著提高(Engberg等,2004)。但在仔猪日粮中添加NSP酶,十二指肠内容物中总蛋白酶、胰蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性均显著降低(幅度分别为57.56%,76.08%,69.03%和40.22%)(Li等,2004)。但Jes-sen等(1996)报道,大麦日粮中添加-葡聚糖酶明显提高了糜蛋白酶的活性。可见,就肠道内消化酶活性所受的影响而言,猪和禽上的试验结果并不一致。姚建国(2001)和奚刚等(1999)总结了外源酶对内源酶活性的影响后均认为,日粮类型和动物种类是影响外源酶对内源酶活性的主要原因。大鼠试验发现热性多糖饲喂量增加引起胰液分泌量和胰酶活性显著增加(Ikegami等,1990),体外试验也表明NSP对脂肪酶和淀粉酶活性有抑制作用(于旭华等,2001;刘强,1998)。

因此,在黏性谷物饲料中添加NSP酶可减轻NSP对肠道消化酶的抑制作用,增加了肠道内消化酶的活性,也能消除胰腺增生和代偿性分泌,可能降低肠道内消化酶的总活性。在装有胰腺瘘管鹅的试验中也发现,饲喂粗酶制剂后,胰腺胰液分泌速率降低,胰淀粉酶活性下降,但胰蛋白酶活力显著提高,十二指肠食糜的淀粉酶活性升高(艾晓杰等,2001)。高峰(2001)也证实小麦日粮添加酶制剂后,肉仔鸡21日龄胰腺淀粉酶活力显著下降( $P<0.05$ )。但Paul等(2004)在添加单宁的玉米豆粕型肉鸡日粮中同时添加复合酶和Jessen等(1998)在大麦型仔猪日粮中添加-葡聚糖均未影响胰腺胰蛋白酶、淀粉酶活性。外源非消化酶对胰腺酶活性的影响更为复杂。

### 1.2 外源消化酶与内源酶活性

一般认为,外源性消化酶,如淀粉酶、蛋白酶等,可弥补在幼龄、老年、应激或疾病状态下,动

物消化道内源酶分泌不足,协助消化,提高养分利用率。奚刚等(1999)在丝毛乌骨鸡玉米豆粕型日粮中添加中性蛋白酶,提高了37日龄和67日龄内源性胃蛋白酶、胰蛋白酶、总蛋白酶和胰淀粉酶的活性。Ritz等(1995)在玉米-豆粕型火鸡日粮中添加淀粉酶试验发现,肠道淀粉酶活性在7~10、16~28及46日龄以后的较长时间内高于对照组。耿丹等(2003)试验也表明,在日粮中添加0.5%蛋白酶和-淀粉酶的复合酶,小肠蛋白酶和淀粉酶活性分别提高了41.3%( $P<0.05$ )和36.7%( $P<0.05$ )。但Mahagna等(1995)报道,在高粱日粮中添加淀粉酶和蛋白酶,降低了小肠内容物中淀粉酶、胰蛋白酶和糜蛋白酶活性,可见,试验结果不一。由于在消化道中,外源消化酶和内源酶难以分清,酶的生物活性极不稳定性以及研究方法的局限性,外源消化酶和内源酶之间关系尚不十分清楚。但多数试验发现,在玉米-豆粕型或高粱型日粮中添加外源消化酶降低了胰腺的消化酶活性(Mahagna等,1995;高宁国等,1997;莫刚等,1999;耿丹等,2003),提示外源消化酶能影响胰腺的外分泌功能。Owsley等(1986)推测,外源酶增加了肠道中进一步分解或吸收的养分量,从而刺激机体消化系统的发育和消化酶的分泌。Ritz等(1995)指出,外源淀粉酶和内源淀粉酶可能具有加性效应。但刘迎春(1999)认为少量添加酶制剂能增强内源酶作用,中等剂量添加外源蛋白酶对内源消化酶有降解作用,再增加外源酶则又显示出正效应。

本实验室在饲料外源酶对动物内源消化酶的影响方面进行了一些研究(见表1)。目前,有关外源酶对内源消化酶影响的研究还仅局限于胰腺和肠道酶活性的比较,外源酶对内源消化酶合成与分泌过程的影响以及胃肠激素对其调控方面的研究报道还十分鲜见。

## 2 外源消化酶与内源酶互作的可能机制

胰腺消化酶的合成首先是在腺泡细胞的核内由特定的基因经转录生成mRNA,然后mRNA转运到核糖体进行翻译形成酶原前体,酶原前体经修饰形成酶原,酶原外面包裹上一层膜形成酶原颗粒,酶



原颗粒经高尔基体被运送到腺泡细胞的顶端，当腺泡细胞受到外部调节信号后，经胞吐作用将酶原分泌到胰管中(Konturek等, 2003)。对胰腺消化酶的影响就体现在对整个合成与分泌过程中某些环节的影响。研究表明，日粮中添加外源酶可影响胰腺消化酶的合成和分泌。本实验室最近研究亦表明，肉鸡日粮中添加微生物 - 淀粉酶下调了胰腺淀粉酶基因 mRNA 水平，降低了胰腺淀粉酶活性 ( $P > 0.05$ )。但外源酶是通过水解底物而间接参与，还是自身直接参与动物内源酶合成和分泌的调节活动，或者两方面共同作用，外源酶和分泌到消化道中内源酶的关系如何，这些尚未探明。

### 2.1 外源酶直接参与内源酶合成和分泌的反馈调控

胰腺外分泌受到自主神经系统、激素和激素因子的调节。日粮是影响这些调控机制的直接因素。目前，还没有直接证据表明，日粮中添加酶制剂直

接参与内源酶合成和分泌的调控。研究表明，将胰液从十二指肠移走或采食含胰蛋白酶抑制剂的日粮能够促进胰腺的外分泌，而重新将胰液引入十二指肠或将胰蛋白酶(而非淀粉酶)灌注入十二指肠，胰腺分泌又显著降低(Fushiki等, 1999)。肠道内胰蛋白酶的分泌具有负反馈的调节，蛋白水解产物、脂肪酸、脂肪等均可刺激小肠黏膜分泌胆囊收缩素(CCK)释放肽，胆囊收缩素释放肽刺激CCK的分泌，CCK可促进胰腺分泌各种消化酶，分泌到肠道中的胰蛋白酶可使胆囊收缩素释放肽失活，抑制CCK释放，从而抑制胰蛋白酶的进一步分泌，防止胰腺分泌过量(杨秀平, 2002)。给肉鸡分别饲喂含7种单体酶的葡萄糖溶液的试验发现，植酸酶和蛋白酶均明显增加了内源氮、氨基酸、能量和干物质的排出量( $P < 0.05$ ) (Cowieson等, 2006)，提示饲喂的外源蛋白酶可能直接参与胰腺的反馈性调节。已有研究报道，向大

表1 家禽日粮中添加酶制剂对消化酶活性的影响

| 日粮类型  | 试验结果         |                                    |  | 资料来源  |           |
|-------|--------------|------------------------------------|--|---|-----------|
|       | 胃            | 小肠内容物                              | 胰腺   |   |           |
| 复合酶A  | 玉米 - 豆粕 - 菜粕 |                                    | 十二指肠空肠胰蛋白酶和淀粉酶活性影响不明显。   | 胰腺胰蛋白酶和淀粉酶活性影响不明显   | 姚建国, 2001 |
| 纤维素酶  | 玉米 - 麸皮 - 豆粕 | 肉鸡腺胃中胃蛋白酶活性略有提高, 纤维素酶活性显著高于十二指肠和空肠 | 28日龄肉鸭空肠胰蛋白酶和总蛋白水解酶活性分别降低了12.96%和10.91% ( $P < 0.05$ ), 盲肠纤维素酶活性提高33.26%和63.10% ( $P < 0.01$ ), 49日龄消化道内酶活性未受影响。             |   | 吕东海, 2002 |
| 果胶酶   | 玉米 - 豆粕      |                                    | 肉鸡十二指肠淀粉酶、总蛋白酶和空肠总蛋白酶活性均呈现出低果胶酶添加水平时升高, 而高水平时降低, 空肠淀粉酶活性未受果胶酶添加水平的影响。  |   | 许毅, 2004  |
| - 淀粉酶 | 玉米 - 豆粕      |                                    | 提高了肉鸡前肠内容物淀粉酶、总蛋白酶 ( $P < 0.05$ ) 和胰蛋白酶 ( $P < 0.05$ ) 活性, 但未影响脂肪酶活性, 而且高剂量 (2250mg/kg) 添加组的总蛋白酶 ( $P < 0.05$ ) 和淀粉酶活性有下降趋势。 | 肉鸡胰腺蛋白含量、淀粉酶、总蛋白酶、胰蛋白酶、脂肪酶活性均无明显影响, 但胰腺淀粉酶活性 (U/g胰腺) 随着外源淀粉酶添加量增加而线性下降 ( $P = 0.022$ )。 | 蒋正宇, 2006 |



鼠十二指肠内灌注牛胰蛋白酶或一种来白灰色链霉菌的蛋白酶混合物(含有10%胰蛋白酶活性)可抑制胰腺消化酶的分泌(Fushiki, 1984; Schneeman等, 1975)。但Inbarr等(1990)认为, 外源性消化酶大多是来源于微生物或植物, 与动物消化道内源酶的结构和最佳作用条件都有很大区别, 所以可能不存在所谓的“反馈性抑制作用”, 而有关外源性淀粉酶和脂肪水解酶相关研究则未见报道。

## 2.2 间接途径对内源酶合成和分泌的调控

外源酶水解产物包括长度大小不一的肽、寡糖、脂肪酸及氨基酸、单糖等, 它们可能具有生物学活性, 并影响内源酶合成和分泌活性。Green和Miyasaka(1983)发现, 与完整蛋白酶相比, 酪蛋白水解物对大鼠胰腺分泌有微弱刺激作用; 而日粮中添加蛋白酶水解蛋白质产生的小肽能明显提高断奶仔猪十二指肠食糜中胰腺分泌的淀粉酶、脂肪酶和胰蛋白酶的活性(王恬等, 2003)。大鼠研究表明, 较之20%蛋白质水平的日粮, 含60%氨基酸水平的日粮显著提高胰腺糜蛋白酶的酶活和合成速度, 但并未影响糜蛋白酶的mRNA水平, 提示氨基酸可能在翻译阶段调节糜蛋白酶合成(Hashimoto等, 2003)。蛋白质水解产物尤其是苯丙氨酸、缬氨酸、蛋氨酸和色氨酸对胰酶分泌促进作用最强, 且这些水解产物可促使小肠黏膜释放胆囊收缩素(Cholecystokinin, CCK), CCK可促进胆囊收缩, 刺激胰腺腺泡分泌各种酶和电解质(Duek, 1986)。日粮中淀粉和淀粉水解终产物葡萄糖对胰腺淀粉酶含量的影响未有差异, 但静脉注射葡萄糖增加了胰腺淀粉酶的含量, 注射脂肪则降低了淀粉酶含量, 蔗糖和果糖含量对胰腺淀粉酶含量的影响较淀粉含量小, 乳糖和半乳糖则不影响胰腺淀粉酶的含量(Brannon, 1990)。但在犊牛皱胃灌注淀粉部分水解物, 明显降低了胰腺淀粉酶蛋白含量和活性(Swanson等, 2002)。日粮中游离脂肪酸增加了胰腺脂肪酶水平(Bazin等, 1978)。

## 2.3 外源酶和消化道中内源酶之间可能的关系

如何能在消化道内复杂的反应体系中分离出有活性的外源消化酶与内源酶, 是研究外源消化酶与内源酶关系所面临的重大问题。此外, 酶活性研究

结果本身具有较大的变异, 因试验动物选择、饲养管理、取样方法和样品前处理方式、酶活的测定方法、酶活性表达法、试验设计及结果统计分析方法等不尽相同, 所以各不同研究中所测得的酶活值的可比性是有限的。就外源消化酶与内源消化酶动力学关系而言, 两者可协同作用底物或竞争底物。体外水解淀粉的试验表明, 来源于真菌(*Aspergillus oryzae*)和细菌(*Bacillus subtilis*)的 $\alpha$ -淀粉酶以1:4的配比时, 具有最佳的协同作用, 再增加细菌淀粉酶, 则降低了水解效率, 抑制了还原糖的生成(Markovic等, 2002)。可见, 结构相异功能相似的微生物酶, 在功能上具有协同作用。与之类似, 微生物淀粉酶与动物自身分泌的淀粉酶结构有很大差异, 它们在消化道内的反应体系中水解淀粉, 比例合适时, 也可能具有协同作用。

理论上认为, 作为蛋白质, 酶会受到消化道内外源或内源性蛋白水解酶的降解作用。这种降解作用在非消化酶上比较明显。但体外试验表明, 低剂量胃蛋白酶不影响猪源性和微生物源性脂肪酶的活性(Kermanshahi等, 1998)。张树政(1998)亦指出, 真菌发酵的酸性蛋白酶与内源蛋白酶具有不同的作用位点, 而且许多来源于真菌的酸性蛋白酶能激活胰蛋白酶原而使内源酶提高。

总之, 外源酶对内源性酶影响及其机理十分复杂, 受动物(种类、年龄、生理状态等)、日粮组成、环境条件和酶制剂(种类、剂量等)等诸多因素的影响。探明外源酶与内源酶互作关系及其调控机制对于合理设计外源酶, 促进内源酶的分泌, 以辅助消化和吸收, 提高肠道养分消化率, 借此提高动物生产性能有重要意义。与此同时, 在人类医学中, 外源消化酶常常作为药物以口服或静脉给药的方式治疗疾病, 如利用非特异性粗酶制品替代治疗胃和胰腺机能不全, 或通过静脉注射微生物蛋白酶治疗慢性动脉梗塞等, 因此, 在动物上研究外源酶制剂对机体的影响亦可为人类医学临床研究提供理论参考。

(参考文献略)