

Metabolomics 기술을 활용한 식품의 건강 기능성 연구

Investigation of the Health Benefits of Food Using Metabolomics

김현진 | 바이오제론연구단

Hyun-Jin Kim | Biogeron Food Technology Research Group

서론

식품이나 식품소재의 품질을 평가할 때 주로 영양가, 맛, 향, 외형 등으로 판단하는게 일반적이지만 최근들어 기능성 식품 시장이 확대되면서 식품이 갖고 있는 생리활성물질들에 초점을 맞추는 경향이 늘고 있다. 특히 식품내 생리활성물질들의 profile 뿐만 아니라 이들을 섭취했을 때 외형적으로 나타나는 표현형 및 생체내 생화학적 지표들의 긍정적 변화가 소비자들에게 고품질의 식품으로 인식시키는 중요한 지표로 작용함으로써 식품의 생리활성물질 및 그 역할 규명이 식품시장에서 그 식품의 가치를 향상시키는데 중요하게 작용하고 있다. 그러나 몇 개의 물질을 target으로 하여 분석하는 기존의 일반적인 분석방법으로는 식품의 생리활성 물질의 profile이나 생체내 변화를 관찰하는데 있어서 많은 한계가 있을 뿐만 아니라 이를 통해 밝혀진 결과들로 인해 그 식품이나 생리활성물질의 생체내 역할을 규명하는데 많은 문제

가 있는 게 현실이다. 또한 기능성 식품에 대한 과학적 증거의 불충분으로 인하여 그 식품에 대한 소비자 신뢰나 시장의 가치가 감소할 수 밖에 없다. 이들 한계를 극복하기 위하여 최근에 새롭게 도입된 기술이 high-throughput data analysis 방법이다.

인간의 유전자 지도 뿐만 아니라 다양한 동식물의 유전자 지도가 성공적으로 완성된 이후에 이들 유전자 정보를 활용하는 genomics를 시작으로 transcriptomics, proteomics, metabolomics까지 다양한 'omics' 기술이 나오게 되는데 이들 기술이 성공적으로 자리를 잡을 수 있었던 것은 수백 개에서 수천, 수만 개의 data를 한 번에 분석할 수 있는 high-throughput data analysis 방법이 개발되었기 때문이며 생명공학분야에서 high-throughput data analysis라고 하면 omics analysis로 보는 것이 일반적이다. 이들 기술이 식품분야 특히 기능성 식품분에 genome, transcriptome, proteome, metabolome을 분석하는 nutrigenomics이라고 하는 기

술로 도입된 것이 최근이다.

그림 1에서 보는 바와 같이 섭취된 nutrient가 장내 효소가 미생물들에 의해 분해된 다음 흡수된 물질이 nutrient signal로 작용하여 유전자의 변화를 초래하고 이들 유전자 정보가 전사되어 단백질을 만들고 최종으로 저분자 대사물질을 생성하여 이들이 표현형으로 나오게 되는데 내외부적인 환경적 변화로 인하여 DNA, mRNA, 단백질, 대사체들이 정성 정량적으로 변하게 되는데 특히 이 중에서 질병 등과 같은 표현형에 직접적으로 관여하는 것으로 알려진 대사체 연구는 다른 'omics' 기술들에 비해 가장 최근에 연구되기 시작하였다. 미생물이나 식물 분야에서 시작되었던 대사체학 연구는

최근들어 생명공학분야에 접목되면서 독성학이나 의약품개발분야에서 활발하게 응용되고 있으나 식품분야 특히 식품의 기능성 연구 분야에 활용은 미흡한 편이지만 꾸준히 증가하고 있는 추세이다. 따라서 본 논문에서는 high-throughput technology 중 metabolomics 기술을 활용한 식품의 기능성 연구에 대해 기술하고자 한다.

Metabolomics

Metabonomics 또는 metabolic profiling이라고도 알려진 metabolomics는 다양한 유전적, 생리적

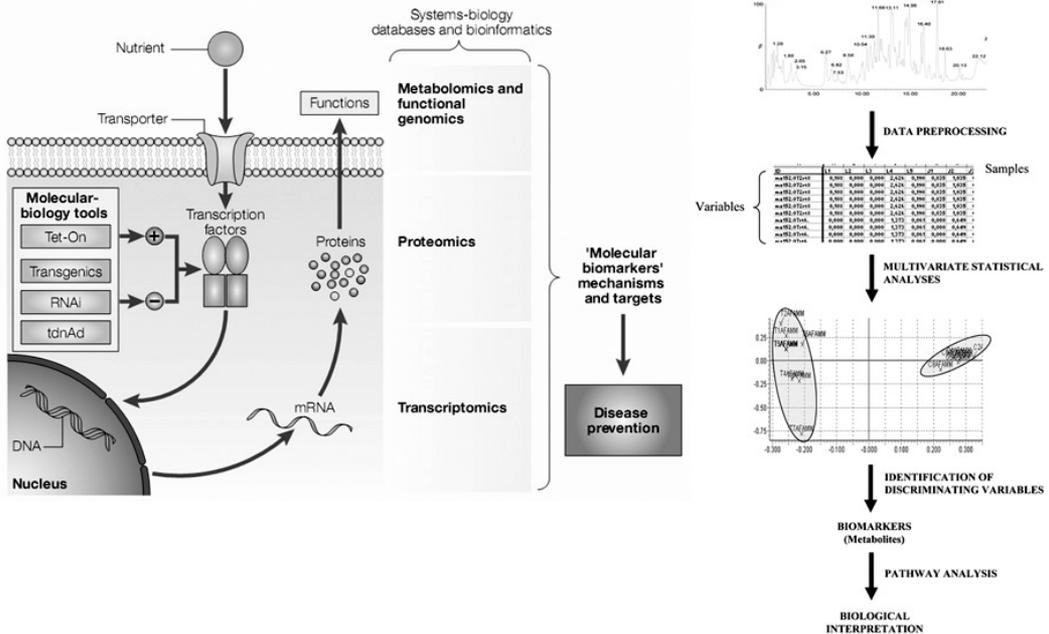


그림 1. Nutrient 관련 omics 기술 및 대사체 분석 흐름도

(Source: Müller M, Kersten S, Nutrigenomics: goals and strategies, Nature Rev., 4, 315-321, 2003)

또는 환경적 조건에서 세포나 조직, 혈액, 뇨 등에 존재하는 1,500 Da 이하의 저분자 물질(metabolome)의 변화를 high-throughput technology를 이용하여 분석하는 ‘-omics’의 한 분야이다. Genomics와 transcriptomics가 질병과 같이 내외부의 환경적 스트레스에 의한 다양한 유전자 및 전사체의 변화에 대한 정보를 얻기 위한 방법이고 proteomics가 단백질의 변화를 분석하는 방법이라면 metabolomics는 변형된 유전자나 단백질들이 실제로 어떤 기능을 갖는지에 대해 연구함으로써 유전형질이 표현형질로 나타나는지에 대한 연결고리를 밝힐 수 있는 중요한 연구 분야이다.

이러한 중요성 때문에 2005년 MIT Technology review가 전 세계적으로 연구가 진행되는 첨단기술 중 5년 이후 경제, 사회적 파급 효과가 큰 10대 기술 중 하나로 metabolomics를 선정하였으며 5년이 지난 2010년도에는 Nature지가 선정한 2020 visions의 하나로 선정되었다.

Metabolomics 연구는 크게 세단계로 구성되는데 생체시료로부터 metabolome을 검출·확인하기 위한 초정밀분석기술 단계와 분석된 data를 통계학적으로 분석하는 단계 그리고 발굴된 metabolic profiles을 이용하여 pathway를 도출해 내는 단계로 구성되어 있다. 첫 단계인 초정밀분석 기술 단계는 특정 metabolome을 target으로 하지 않고 분석해 낼 수 있는 모든 metabolome을 분석하는 global(non-targeting) metabolic analysis와 target한 특정 물질만을 분석하는 target metabolic analysis로 나눌 수 있는데 global analysis인 경우 시료가 적게 들어가고 전처리 과정이 거의 필요 없는 반면 농도가 낮은 metabolite의 분석은 어렵다. 그러나 target analysis인 경우 시료량이 많이 들어

가고 전처리 작업이 들어가지만 낮은 농도의 metabolite도 분석이 가능한 장점을 갖고 있다. 두 번째 단계는 data 분석 단계로 NMR이나 MS로 분석한 모든 data를 다변량통계분석을 이용하여 통계학적으로 분석하고 그 결과를 시각화시킴으로 인하여 비교하는 그룹 간의 차이를 한 눈에 볼 수 있도록 하였으며 어떤 metabolome이 비교 그룹 간의 차이에 관여하는지를 쉽게 알아볼 수 있도록 하였다. 마지막 단계로 시료분석과 통계분석을 통해 얻어진 metabolic profiles를 생체 네트워크로 재구성하여 metabolic pathway를 구축하는 단계이다.

Metabolomics 연구를 위한 high-throughput technology

Metabolic analysis에 사용되는 대표적인 분석 장비는 NMR과 MS이며 분석 장비의 특성에 따라 분석될 수 있는 metabolome이 특이적으로 구분될 수 있다. 이 중에서 가장 많이 사용되고 있는 장비는 비파괴검사인 NMR로 감도가 떨어지고 시료의 양이 많이 필요하며 검출 가능한 물질이 한정되어 있다는 단점에도 불구하고 분석시간이 짧고 resolution과 재연성이 높을 뿐만 아니라 metabolic database가 잘 구축되어 있어서 metabolic analysis에 많이 사용되고 있다. NMR과 더불어 metabolomics 연구에 사용되는 기기가 MS로 분석방법에 따라 gas chromatography(GC)/MS와 liquid chromatography(LC)/MS가 있다. GC/MS는 다른 장비와는 달리 시료를 유도체화 시켜야하고 분석시간이 길다는 단점을 갖고 있기는 하지만 감도, 재연성, 분석 시료량,

metabolic database 구축에 있어서 장점을 갖고 있다. LC/MS는 최근에 기기적인 업그레이드로 인하여 분석시간이나 낮은 resolution과 같은 기기적인 단점은 많이 보완되었지만 metabolome을 위한 database 구축이 다른 장비들에 비해 한정되어 있어서 다른 장비에 비해 많은 노력이 요구되고는 있지만 분석 가능한 metabolite의 수가 다른 기기에 비해 월등히 많고 적은 시료 양으로도 분석이 가능하기 때문에 최근에 가장 많이 쓰이고 있는 장비 중 하나이다. NMR과 MS의 문제점들을 상호보완하기 위하여 최근에 LC-NMR/MS 장비가 사용되고 있으며 실제로 많은 연구팀들이 NMR, GC/MS, LC/MS 장비를 두 개 이상 사용하여 시료를 분석함으로써 보다 많은 metabolites을 분석하고 data 신뢰도를 높이는데 노력하고 있다.

이렇게 얻어진 시료의 spectrum data를 분석하기 위해서는 MarkerLynx, Chenomx NMR, MATLAB 등의 프로그램을 이용하여 일정 감도이상의 data만을 모으고(mining), retention time을 맞추고(alignment), total spectrum intensity로 각각의 spectrum intensity를 나누어주고(normalization), 일정 간격으로 data를 합침(binning)으로써 data의 오차를 줄여 잘못된 결과를 도출할 가능성을 낮게 한 다음 다변량통계분석을 이용하여 통계학적으로 data를 분석한다.

Principal component analysis(PCA), partial least squares(PLS), discriminant analysis(DA)의 다변량통계분석을 이용하여 분석된 한 시료의 spectrum data를 2차원 또는 3차원 공간에 한 점으로 표시해주고 이들 점들이 모여서 그룹 간의 차이를 시각화시켜주고 어떤 metabolites이 그룹 간의 차이에 관여하는지에 대한 정보를 제공해준다.

Metabolomics를 활용한 식품의 기능성 연구

미생물과 식물 분야에서 시작되었던 metabolomics 연구가 최근 들어 신약개발 분야와 의학 분야뿐만 아니라 식품분야에서까지 활용되고 있다. 특히 식품분야에서는 크게 식품성분 분석, 식품 품질·원산지 평가, 식품섭취 모니터링 및 식품섭취 후 생리변화 분석으로 나누어지는데 그 중에서도 가장 활발하게 연구되고 있는 분야가 마지막에 언급한 식품과 생리변화와의 상관성을 규명하는 일이다.

식품이나 기능성 식품 소재를 질병을 갖고 있는 사람이나 특히 질병 동물모델에 투여한 후 생체시료(사람인 경우 혈액과 뇨, 동물인 경우 혈액, 뇨, 조직)에 들어있는 metabolites의 변화와 생리학적 또는 생화학적인 지표들을 분석한 후 이들 data의 상관성을 규명하고 이들을 투여 전 또는 대조군의 대사체 및 다른 지표들과 비교함으로써 섭취한 식품이 질병에 긍정적인 혹은 부정적인 효과를 갖고 있는지 확인하며 이러한 효과는 어떤 metabolites이 주로 관여하는지 그리고 섭취한 식품이 이들 metabolites 변화에 어떻게 영향을 줬는지에 대한 연구를 통해 섭취한 식품이나 소재의 건강 기능성에 대한 과학적 근거를 제시해주는 연구들이 진행되고 있다. 이러한 연구는 기존의 기능성식품 연구에서 보여주는 *in vitro*, *in vivo*의 화학적, 분자생물학적인 접근을 통한 반응기작 연구나 생리활성 연구의 한계를 극복하는데 도움을 주고 있다. 화학적, 분자생물학적인 실험이 새로 발굴된 기능성 소재의 역할에 대한 기초적이면서 중요한 부분들을 밝힐 수는 있지만 발굴된 소재가 생체 내 들어갔을 때 생체 내에서 어떤 물질들이 생성되며 이들 생성

표 1. Phytochemicals을 섭취에 의해 도출된 endogenous metabolite 및 생리활성의 변화

Reference	Intervention	Subjects (samples)	Analytical-technique	Modified endogenous metabolites	Biological hypotheses
Fardet et al., 2008	Animal study: Normo (5%) or hyperlipidic (15 and 25 %) diets supplemented or not with (+)-catechin (0.2% diet) for 6 wk	6 groups of 8 male Wistar rats (urine)	LC-TOF	↑ Deoxycytidine, Nicotinic acid, Dihydroxyquinoline, Pipecolinic acid	Possible increase in DNA break-down, chronic liver dysfunction or peroxisomal disorders. Possible inhibition of microbiota growth by catechin
Walsh et al., 2007	Non-controlled human study (parallel design): Low-phytochemical diet for 2 days followed by a standard phytochemical diet for 2 days (apple, carrot, strawberry drinks)	21 healthy women (n =12) and men (n =9) (spot urine)	¹ H NMR LC-ToF	↑ Creatinine, 3-Methylhistidine, Hippurate	Possible changes in energy metabolism and muscle proteolysis intestinal bacterial metabolism of phytochemicals
Bertram et al., 2009	Animal study: Comparison of a rye-based diet (whole grain) and a wheat-based diet (non-whole grain), each diet for one week	6 female pigs (plasma and urine)	¹ H NMR LC-MS	↑ Betaine, Hippurate after the whole-grain diet (rye), Creatinine after the non-whole grain diet (wheat)	Further studies needed to elucidate the role of betaine and its potential connection with creatinine excretion in the health-promoting effect of whole grain cereals
Solanky et al., 2005	Controlled study: Miso (50 g/day) or soy protein (60 g/day) intervention or one month	9 healthy premenopausal women (24 h urine)	¹ H NMR	↑ TMAO, Choline, Creatinine, Creatine, ↑ Methylamine, Dimethylamine, ↓ Citrate, Lactate (only after miso intake) ↓ Hippurate, Benzoate, ↑ Glutamine, Glutamate (only after soy intake)	Changes in glomerular or kidney functions Changes in lipid and cholesterol metabolism Changes in carbohydrate metabolism Changes in phenyl/benzoate metabolism Changes in tricarboxylic acid cycle; Increase in protein breakdown

(Source : Müller M, Kersten S, Nutrigenomics : goals and strategies, Nature Rev., 4, 315-321, 2003)

된 물질들이 어떤 작용을 하는지 그리고 이들이 어떤 경로를 통해 질병예방이나 억제에 직접적으로 관여하는지에 대해 충분히 설명할 수 없는 것이 대부분이다.

식품분야에서 건강 기능성 관련해서 가장 많은 연구가 진행되고 있는 분야로는 잠재적인 기능성 식품소재인 phytochemicals과 endogenous metabolites 및 생리활성의 상관관계 연구로 표 1에 보는 바와 같이 phytochemicals을 투여한 후 NMR이나 MS를 이용하여 혈청이나 뇨로부터 특정 metabolites의 변화를 확인하고 이들 metabolites가 생체 내에서 생리학적으로 어떤 역할들을

하는지 조사하였다.

예를 들어 건강한 폐경기 전 여성들에게 콩 단백질과 miso를 섭취하게 한 후 뇨의 metabolites를 분석한 결과 유리 isoflavone과 conjugated isoflavone이 kidney osmolyte 활성과 에너지 대사에 관계하는 것으로 알려졌다며 녹차를 섭취했을 경우에는 citric acid cycle의 중간 대사물질(citrate, pyruvate, oxaloacetate 등)이 유의적으로 증가하는 것으로 보아 녹차에 들어있는 flavonoid들이 산화에너지 대사에 관여하는 것으로 조사되었다. 또한 가장 최근에 다양한 과일류, 코코아, 와인 등에 풍부하게 들어있는 catechin을 고지방식이를 한 쥐에게

투여하여 대사체 변화를 LC/MS를 이용하여 분석한 결과 약 1,000개 이상의 대사체가 고지방 식이에 의해 영향을 받고 그 중 76개의 metabolites가 catechin 식이에 의해 영향을 받는 것을 확인하였다. 특히 비만의 biomarker로 알려진 nicotinic acid의 함량이 catechin 식이에 의해 저지방식이군의 level로 떨어졌으며 이는 catechin이 tryptophan-nicotinic acid pathway를 조절하는 효소를 조절하기 때문이다.

대사체학을 활용한 기능성 식품 연구의 향후 방향

생체 대사와 식품 또는 식품 소재와의 복잡한 관계 특히 질병 또는 건강과의 관계를 연구하는데 있

어서 metabolomics은 아주 강력한 기술이지만 어떻게 metabolites이 생체 내의 항상성을 유지하고 대사의 balance를 조절하는지에 대한 문제는 앞으로 metabolomics 기술이 풀어야 할 과제이다. 이를 위해서는 가장 먼저 지금의 metabolites 분석 수준(전체 대사물질 중 약 10% 정도만이 동정됨)을 끌어올려 대사물질 20% 이상 동정해 낼 수 있도록 분석기술을 개발하고 database를 구축함으로써 새로운 잠재적 biomarker들을 많이 발굴하고 이를 다른 omics 기술들로부터 획득한 결과들과의 상관성을 규명함으로써 생체 대사를 좀 더 구체적으로 이해하는데 도움이 될 것으로 사료된다.

또한 식품의 기능성 연구에 metabolomics을 보다 효과적으로 적용하기 위해서는 특정 단일 소재로 실험을 할 것이 아니라 식품이나 건강 보조식품

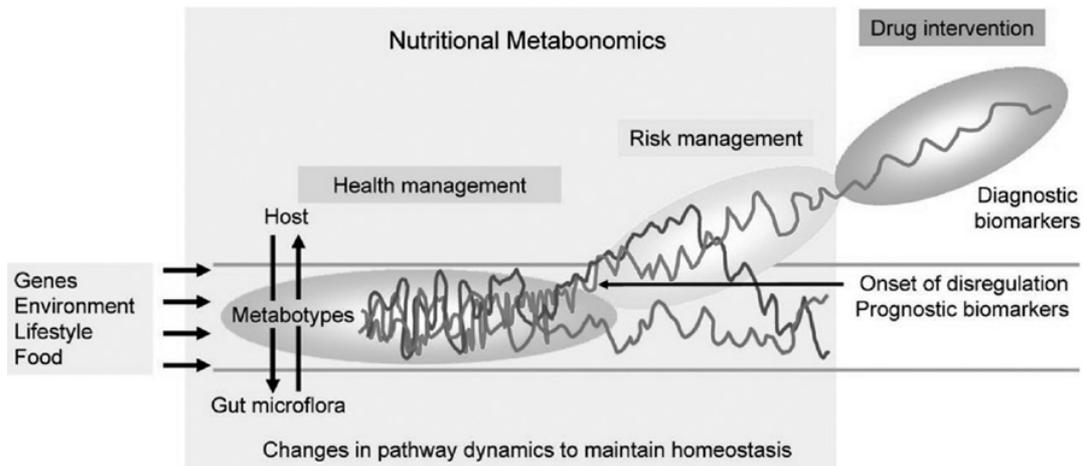


그림 2. 건강과 위험 관리를 위한 nutritional metabonomics의 개념

유전자, 환경, 생활, 음식 및 장내미생물군의 상호작용에 의한 개개인의 metatypes(파랑색, 빨강색, 녹색 선)은 건강한 범위(녹색선) 내에서 항상성 조절을 위해 metabolite의 변화를 관리하게 되는데 metabolomics 연구를 통해 발굴된 질병관련 징후 biomarkers은 항상성 조절의 실패나 미래에 나타날 수 있는 질병을 진단 하는데 사용될 수 있다. Nutritional metabonomics는 파랑색 선으로 표시된 것처럼 건강관리를 위한 최적의 영양과 항상성 회복을 목적으로 하고 있다.

(Source : Rezzi et al, J. Proteome Res., 6, 513-525, 2007 Van der Greef et al, Curr. Opin. Chem. Biol., 8, 559-565, 2004)

형태로 섭취한 후 그 기능을 확인하는 노력이 이루어져야 할 것이다. 식품이나 건강 보조식품이 단일 소재보다는 훨씬 복잡하기 때문에 생체 내에서 다른 경향을 보일 가능성이 상당히 높으며 효과를 확인한 단일 소재를 식품이나 건강 보조식품에 첨가했다고 하더라도 그 소재가 첨가된 식품이나 건강 보조식품의 섭취로 동일한 효과를 기대할 수 없는 경우가 대부분이다.

그리고 앞에서 언급했듯이 metabolic profile의 변화, 즉 질병이나 스트레스에 의해 유도될 수 있는 특정 metabolites(biomarkers)의 변화를 통해 건강 상태를 파악하는데 활용할 수 있다(그림 2). 많은 생체 biomarkers를 알고 있다는 전제하에서 혈액이나 뇨의 전체적인 metabolites를 분석한 후 이들 biomarkers의 패턴을 확인함으로써 질병에 걸렸거나 미래에 어떤 질병에 걸릴 확률이 높아져 주의가 요구된다거나 하는 질병의 징후나 진단이 metabolomics 연구로 가능하다. 이렇게 metabolomics가 질병의 징후나 진단을 위해서 사용되려면 앞에서 언급했듯이 보다 정확한 biomarkers의 많은 발굴이 선행되어야 할 것이다. 그리고 이런 단계에까지 도달하게 된다면 각 개인에게 맞는 맞춤형 식이가 개발될 수 있을 것으로 사료된다.

● 참고문헌 ●

1. 정봉철, 질환연구분야에서의 대사체학, 분자세포생물학뉴스, 18, 17-27, 2006
2. Bertram HC, Knudsen KEB, Serena A,

Malmendal A, Nielsen NC, Frette XC, Andersen HJ, NMR-based metabonomic studies reveal changes in the biochemical profile of plasma and urine from pigs fed high-fibre rye bread, Br. J. Nutr., 95, 955-962, 2006

3. Fardet A, Llorach R, Martin JF, Besson C, Lyan B, Pujos-Guillot E, Scalbert A, A liquid chromatography-quadrupole time-of-flight (LC-QTOF)-based metabolomic approach reveals new metabolic effects of catechin in rats fed high-fat diets, J. Proteome Res., 7, 2388-2398, 2008
4. García-Cañas V, Simó C, León C, Cifuentes A, Advances in nutrigenomics research: novel and future analytical approaches to investigate the biological activity of natural compounds and food functions, J. Pharm. Biomed. Anal., 51, 290-304, 2010
5. Manach C, Hubert J, Llorach R, Scalbert A, The complex links between dietary phytochemicals and human health deciphered by metabolomics, Mol. Nutr. Food Res., 53, 1303-1315, 2009
6. Müller M, Kersten S, Nutrigenomics: goals and strategies, Nature Rev., 4, 315-321, 2003
7. Rezzi S, Ramadan Z, Fay LB, Kochhar S, Nutritional metabolomics: applications and perspectives, J. proteome Res., 6, 513-525, 2007
8. Solanky K, Bailey N, Beckwith-Hall B, Bingham S, Davis A, Holmes E, Nicholson J, Cassidy A, Biofluid H NMR-based metabonomic techniques in nutrition research - metabolic effects of dietary isoflavones in humans, J. Nutr.

- Biochem., **16**, 236-244, 2005
9. Van der Greef J, Stroobant P, van der Heijden R, The role of analytical sciences in medical systems biology Curr. Opin. Chem. Biol., **8**, 559-565, 2004
10. Walsh MC, Brennan L, Pujos-Guyot E, Sébédio JL, Scalbert A, Fagan A, Higgins DG, Gibney MJ, Influence of acute phytochemical intake on human urinary metabolomic profiles, Am. J. Clin. Nutr., **86**, 1687-1693, 2007
11. Wishart DS, Metabolomics: applications to food science and nutrition research, Trend Food Sci. Technol., **19**, 482-493, 2008
12. 2010 visions, Nature, **463**, 26-32, 2010

김 현 진 농학박사

소 속 : 한국식품연구원 바이오제론연구단

전문분야 : metabolomics, 식물 스트레스를 이
용한 채소류의 기능성 물질 함량 증가
기술

E-mail : hyunjkim@kfri.re.kr

T E L : 031-780-9317