

2'-Fucosyllactose가 마우스 배변 및 장내 미생물에 미치는 영향

김한해 · 김연지* · 김광연* · 신철수** · 윤종원*** · 전선민**** · 김보미***** · 방정수***** · †김경호*****
한국한의학연구원 UST 학생연구원, *한국한의학연구원 연구원, **㈜에이피테크놀로지 대표이사,
㈜에이피테크놀로지 연구소장, *㈜에이피테크놀로지 연구위원, *****한국한의학연구원 책임연구원

Effects of 2'-Fucosyllactose on Defecation and Intestinal Microbiota in Mice

Han Hae Kim, Yeon Ji Kim*, Kwang-Youn Kim*, Chul Soo Shin**, Jong-Won Yoon***,
Seon-min Jeon****, Bo-Mee Kim****, Jeongsu Bang***** and †Kyungho Kim*****

Graduate School Student, Korean Medicine Application Center, Korea Institute of Oriental Medicine, Daegu 41062, Korea

*Researcher, Korean Medicine Application Center, Korea Institute of Oriental Medicine, Daegu 41062, Korea

**CEO, Advanced Protein Technologies Corp., Suwon 16229, Korea

***Center Director, Advanced Protein Technologies Corp., Suwon 16229, Korea

****Researcher, Advanced Protein Technologies Corp., Suwon 16229, Korea

*****Principal Researcher, Korean Medicine Application Center, Korea Institute of Oriental Medicine, Daegu 41062, Korea

Abstract

Prebiotics are known as components of intestinal microbiota that can improve and maintain human health status by stimulating the growth and activity of the intestinal tract as a method of controlling the intestinal environment. In this study, we examined whether 2'-fucosyllactose (FL) could affect intestinal microbial population and bowel activity. Water content and frequency of mouse feces were increased in the 2'-FL treated group at a high concentration (1,000 mg/kg), with brightness of the color enhanced and physical properties diluted. In addition, intestinal microbial analysis showed that harmful bacteria Clostridium and Staphylococcus strains were decreased and beneficial bacteria such as Lactobacillus strains were markedly increased in the group treated with a high concentration of 2'-FL compared to those in the control group. These findings suggest that administration of 2'-FL can maintain healthy bowel activity by reducing harmful bacteria population and improving diluted physical properties.

Key words: 2'-fucosyllactose, prebiotics, intestinal microbiota, defecation, stool

서론

장 항상성(homeostasis)은 대장에서 장내 미생물과 장 상피 세포 간의 상호관계를 통해 조절되며, 병원체의 체내 유입을 막고 영양분 흡수를 도와 건강을 유지하게 한다. 이러한 장 항상성의 불균형에 따라, 변비, 설사, 대장염 그리고 대장암 등 다양한 질환의 진행과 발생에 원인이 될 수 있다. 이러한 장 항상성의 지표는 아직 명확하지는 않으나, 장내 미생물의 분포, 유익균과 유해균의 비율, 대장 운동성과 분변의 수분 함량 등 여러 가지 요인을 통해 장의 건강상태를 확인할 수

있다(Bourlioux 등 2003; Maloy & Powrie 2011; Rho & Kim 2011; Ministry of Food and Drug Safety 2020).

최근 다양한 장내 미생물의 종류와 장 상피세포와의 상관 관계가 밝혀짐에 따라서, 장 환경에 영향을 미칠 수 있는 기능성 물질에 관한 연구가 진행되고 있으며, 대표적으로 프리바이오틱스(prebiotics) 및 프로바이오틱스(probiotics)가 있다. 이들은 장내 유익균의 증가 및 유해균 감소를 통한 병원체 유입 억제와 장내 수분 및 운동성 조절 등 다양한 효과가 보고되어 있다(Kleessen 등 1997; Ogata 등 1997; Gibson GR 1999; Bode L 2012; Vázquez 등 2015; Good 등 2016; Kulinić

† Corresponding author: Kyungho Kim, Principal Researcher, Korean Medicine Application Center, Korea Institute of Oriental Medicine, Daegu 41062, Korea. Tel: +82-53-940-3832, Fax: +82-53-940-3899, E-mail: jk6012@kiom.re.kr

& Liu 2016; Zehra 등 2018).

이 중 프리바이오틱스는 인간 모유올리고당[human milk oligosaccharides (HMOs)], 자일로올리고당(xylooligosaccharide) 및 프락토올리고당(fructooligosaccharide)과 같은 기능성 올리고당으로 유산균과 같은 장내 유익균의 증식을 돕고, 장내 pH를 낮추어 병원체들이 장 상피세포에 부착되는 것을 억제한다(Fioridaliso 등 1995; Kwon & Lee 2002). 특히 인간의 모유에만 존재하는, HMOs는 영유아의 영양공급 및 면역력 증강에 도움을 주는 물질로 지질 및 유당에 이어 3번째로 풍부한 성분이며, 약 200여종이 존재한다(Ballard & Morrow 2013; Soyyilmaz 등 2021).

이와 같은 올리고당은 우유보다 인간의 모유에 많이 분포하며, 그 함량은 약 100~300배 차이가 난다(Martinez-Ferez 등 2006; Bode L 2012). 또한 HMOs의 구조는 D-glucose, D-galactose, N-acetylglucosamine, L-fucose, 그리고 N-acetylneuraminic acid 등 5가지 구성 단당류들이 결합하는 구조에 따라 올리고당의 크기, 종류, 특성이 결정된다(Niñonuevo 등 2005; German 등 2008). 이들 올리고당은 공통으로 환원말단 부위에 lactose를 지니며, lacto-N-biose 또는 N-acetylactosamine이 추가로 연장된 사슬의 말단이나 중간에 푸코실화(Fucosylation) 및 시알릴화(Sialylation)되는 것이 특징이다. 모유올리고당의 60~80%가 푸코실화되어 있으며, 우유는 70%가 시알릴화되어 존재한다. 대표적인 푸코실화 올리고당은 2'-fucosyllactose(FL), 3-FL이며, 시알릴화 올리고당에는 3'-sialyllactose(SL)와 6'-SL이 있다(Bode L 2012; Han 등 2012).

2'-FL은 전체 HMOs 중 약 20%가량 차지하며(Soyyilmaz 등 2021), 유아의 장내 유익균 성장 조절, 과민성 대장증후군 외에 설사 및 변비를 조절하여 장건강을 돕는 것으로 보고되어 있다(Morrow 등 2004; Marriage 등 2015; Lewis 등 2015). 또한 *Campylobacter jejuni*와 같은 식중독균의 성장 및 장 상피세포에 대한 병원성 *E.coli*의 부착 저해(Yu 등 2016; Facinelli 등 2019), 면역력 증가(Kulinich & Liu 2016), 장내 대사 개선(Good 등 2016), 인지능력 향상(Vázquez 등 2015), 및 알레르기 억제(Zehra 등 2018) 등의 효과들이 보고되어 있다.

이와 같이 2'-FL은 여러 질환 모델에서의 개선 효능이 보고되었지만, 건강한 상태에서 장 건강 유지에 관한 연구는 미흡한 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 정상 마우스에 2'-FL를 경구 투여한 뒤 분변의 물리적 특성 평가, 수분함량 측정 및 장내 미생물 조성 분석을 수행하였고, 이를 통해 2'-FL이 장 항상성에 미치는 영향을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 시험물질 조제

본 실험에서 사용한 모유올리고당 2'-fucosyllactose(FL)은

(쑤에이피테크놀로지(Suwon, Korea)에서 받아서 사용하였다. 마우스 경구투여를 위한 시험물질인 2'-FL은 각각 600 혹은 1,000 mg/kg/body weight 농도로 멸균된 증류수에 용해 시켜 마우스에 한 마리당 200 μ L씩 투여하였고, 이때 대조군은 멸균된 증류수만 투여하였다. 그리고 실험동물용 고형사료(PicoLab Roden Diet 5053)와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

2. 실험동물의 사육

수컷 마우스 8주령 C57BL/6J(22~23 g)은 두얼바이오(Seoul, Korea)에서 구입하여, 일주일 동안 23 \pm 1 $^{\circ}$ C, 56% 상대습도 조건에서 순응기간을 거쳤다. 실험군은 총 3군으로 대조군(vehicle), 2'-FL 저농도군(600 mg/kg, 2'-FL-Low) 및 2'-FL 고농도군(1,000 mg/kg, 2'-FL-High) 각 군당 8마리씩 무작위로 분리하여 사용하였다. 실험이 수행되는 12주 동안 일 1회, 동일한 시간에 경구투여하였다. 또한, 2'-FL 투여로 인한 마우스의 체중 변화를 관찰하기 위하여 주 1회 체중을 측정하여 기록하였다. 본 실험은 한국한의학연구원 동물실험윤리위원회에서 검토 및 승인되었으며, 위원회 지침을 엄격히 준수하였다(KIOM IACUC 22-011).

3. 분변 시료 수집 및 분변 빈도 평가

2'-FL 투여에 따른 분변의 형상 관찰 및 수분함량을 분석하기 위하여, 주 1회 분변 시료를 수집하였다. 분변 수집을 위하여, 마우스 개체별로 각각의 cage에 분리한 뒤 분변 배출 즉시 분변을 핀셋으로 수집하였다. 또한, 분변 빈도를 확인하기 위하여, 마우스가 1시간 동안 배출한 분변의 수를 세어 합산한 뒤 각 군당 평균을 계산하였다. 분변 빈도 평가는 실험이 수행된 12주 동안 4주 간격으로 3회 실시하였다.

4. 분변 수분함량 평가

분변 내 수분함량을 분석하기 위하여, 각 마우스에서 수집한 분변 2개씩 무작위로 고른 뒤 건조 전 시료 무게(fresh weight)를 측정하고, 85 $^{\circ}$ C 조건에서 24시간 동안 건조시킨 뒤 시료 무게(dry weight)를 측정하였다. 이후 측정된 값을 아래의 식에 대입하여 수분함량(water contents, %)을 계산하였다.

$$\text{수분함량 (\%)} = \frac{\text{건조 전 시료 무게} - \text{건조 후 시료 무게}}{\text{건조 전 시료 무게}} \times 100$$

5. 장내 미생물 평가

마우스에서 수집한 분변의 장내 미생물 분석은 한국의과학연구원 분석센터에 의뢰하여 분석하였으며, 분변시료 내 genomic DNA는 QIAamp DNA Stool Kit(Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 분리 및 정제하여 사용하였다.

장내 미생물 군집은, 유익균 *Bifidobacterium* spp. 및 *Lactobacillus* spp.와 유해균 *Clostridium* spp. 및 *Staphylococcus* spp.로 선정하여 미국 국립생물정보센터(National Center for Biotechnology Information)의 database로부터 얻은 16S rRNA 유전자 서열을 기반으로 primer를 제작[the primer express 2.0 software(Applied Biosystems, Foster city, CA, USA)]하여 분석하였다(Wheeler & Katzmann 2006).

50 ng으로 정제된 분변 DNA를 사용하여 StepOnePlus Real-Time PCR System(Applied Biosystems)을 이용하여 각각 증폭되었다. 실험은 동일한 과정을 2회 반복하여 수행되었으며, 측정된 Cycle threshold 값은 배양된 대상 미생물의 genomic DNA를 10배수 희석하여 만든 표준 곡선과 비교하여 CFU/g으로 나타내었다.

6. 통계분석

실험 결과에 대한 통계 처리는 GraphPad Prism 5.0 software를 이용하여 2-way ANOVA를 실시하였고, 각 시료 간의 통계적 유의성은 Duncan's multiple range tests로 검증하였다. 모든 실험 결과는 mean±SEM으로 표기하였고, $p < 0.05$ 이상일 때만 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

결과 및 고찰

1. 모유올리고당 2'-FL 투여에 따른 마우스 체중 변화 및 분변 빈도 평가

2'-FL을 12주간 경구투여받은 마우스들의 체중 변화를 측정한 결과, 대조군을 포함한 모든 실험군에서 유사한 체중 증가가 관찰되었으며, 12주차 대조군의 체중은 10.5 ± 0.8 g 증가하였고, 2'-FL 실험군은 Low 9.9 ± 1.0 g, High 9.7 ± 0.5 g으로 유의적인 차이는 확인되지 않았다(Table 1). 이때, 실험이 수행되는 12주 동안 2'-FL 투여로 사망한 마우스는 없었다.

분변의 빈도는 장건강 상태를 나타내는 지표 중 하나로, 장의 운동능력과 분변의 수분함량에 영향을 받는다(Andrews & Storr 2011; Ministry of Food and Drug Safety 2020). 2'-FL 경구투여에 따른 분변 빈도를 평가한 결과, 1주차의 분변 빈도는 대조군 7.9 ± 2.2 , 2'-FL 저농도군 7.7 ± 1.8 , 2'-FL 고농도군 7.5 ± 1.9 로 각 실험군 간에 차이는 발견되지 않았다(Table 2). 이후 7주차까지 분변 빈도에 대한 유의적인 차이는 나타나지 않았으나, 8주차부터 대조군 대비 2'-FL 고농도군에서 유의적으로 빈도가 증가하기 시작하여, 실험이 종료되는 12주차에 12.4 ± 1.2 로 모든 군 중 분변 빈도가 가장 높게 나타났다

Table 1. Changes in body weight(g) of mice

Group	Weeks on study											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Vehicle	24.6±0.2 ¹⁾²⁾	25.7±0.4	26.8±0.5	28.4±0.6	30.0±0.5	30.4±0.6	30.4±0.5	32.0±0.6	32.3±0.5	34.3±0.7	34.6±0.7	35.1±0.8
2'-FL-Low ³⁾	25.1±0.2	25.8±0.2	26.8±0.4	28.4±0.5	29.5±0.4	30.3±0.3	30.7±0.5	32.0±0.7	32.3±0.8	34.3±1.0	34.7±1.0	35.0±1.0
2'-FL-High ³⁾	25.4±0.2	25.8±0.3	26.8±0.3	28.1±0.4	29.6±0.4	30.4±0.4	30.1±0.4	31.9±0.4	32.6±0.4	33.7±0.6	34.6±0.6	35.1±0.5

¹⁾ All body weights calculated in grams.

²⁾ Data are shown as the mean±SEM, n=8.

³⁾ 2'-FL-Low: 2'-FL 600 mg/kg/body weight, 2'-FL-High: 2'-FL 1,000 mg/kg/body weight.

Table 2. Effects of 2'-FL on the stool frequency per 1 hour

Group	Weeks on study			
	1	4	8	12
Vehicle	7.9±2.2 ¹⁾²⁾	6.3±1.1	7.3±1.2	7.8±1.3
2'-FL-Low ³⁾	7.7±1.8	5.8±1.1	7.7±1.0	8.7±0.6
2'-FL-High ³⁾	7.5±1.9	8.9±1.7	10.6±1.6*	12.4±1.2*

¹⁾ All stool frequency calculated in per 1 hour.

²⁾ Data are shown as the mean±SEM, n=8, * $p < 0.05$, vs. control (2-way ANOVA test).

³⁾ 2'-FL-Low: 2'-FL 600 mg/kg/body weight, 2'-FL-High: 2'-FL 1,000 mg/kg/body weight.

(Fig. 1).

2'-FL을 포함한 기능성 올리고당은 장 운동성 및 분변의 경도 개선을 통해 분변의 빈도를 증가시키는 것으로 보고되었는데, Na & Kim(2007)의 연구에서 한국 여성에게 자일로 올리고당을 28일간 섭취시켰을 때 변이 묽어지고 장의 운동성을 도와 배변시 드는 힘을 줄여주어 배변 양을 증가시키는 것으로 보고되었으며, Farhin 등 (2019)은 2'-FL의 섭취가 스트레스에 의한 장 운동장애를 개선시켰으며, Ramirez-Farias 등(2021)은 유아에게 2'-FL의 섭취가 변비 개선에 영향을 주었다고 보고하였다. 따라서, 2'-FL 고농도군에서 분변 빈도 증가는 2'-FL이 마우스의 장운동을 자극에 의한 것으로 사료되며, 이후 마우스 분변의 수분함량을 평가하였다.

2. 모유올리고당 2'-FL 투여에 의한 분변 수분함량 평가

2'-FL 투여에 의한 마우스 분변의 수분함량을 평가한 결과, 1주차에 대조군과 2'-FL저농도군 및 2'-FL 고농도군의 평균 분변 수분함량은 각각 62.1, 61.3 및 61.9%로 측정되었다 (Table 3). 경구투여 8주차까지 통계적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았지만 2'-FL을 투여한 실험군에서는 수분함량이 높아지는 경향이 나타났고, 9주차부터 2'-FL 고농도군의 분변 수분함량이 67.3%로 유의적으로 증가하였다(Fig. 2). 실험이 종료되는 12주차에는 2'-FL 실험군 모두 유의적으로 수분함량이 높아졌으나, 2'-FL 농도에 따른 차이는 관찰되지 않았다. 이와 달리 Mao 등(2022)은 한 달간 마우스에 2'-FL을 경구 투여하였을 때 유익균의 성장을 도왔지만, 분변의 수분함량에서 유의적인 차이는 관찰되지 않는 것으로 보고하였다. 또한, Robinson 등(2001)과 Bouhnik 등(2004), Na & Kim (2007)은 각각 21일과 15일, 28일 동안 일반 성인에서 2'-FL과 같은 기능성 올리고당의 섭취가 대조군과 비교하여 상대적으로 수분함량이 증가하는 경향이 있지만, 유의적인 결과가 나타나지 않은 것으로 보고한 바 있다. 2'-FL을 12주 동안 경구 투여한 것을 고려하면, 2'-FL이 장내 환경을 변화시켜 배변 활동에 영향을 주기까지 상당한 시간이 걸리는 것으로

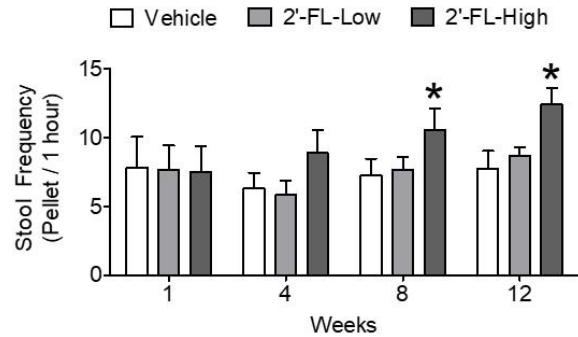


Fig. 1. Effects of 2'-FL on the stool frequency. Vehicle mice are gavaged saline and had free access to drinking water. HMO, 2'-FL-Low or 2'-FL-High mice were treated with 600 and 1,000 mg/kg 2'-FL, respectively, stool was observed once every 4 weeks. Data are shown as the mean±SEM, n=8, *p<0.05, vs. control (2-way ANOVA test).

사료된다.

3. 모유올리고당 2'-FL 투여에 따른 분변의 물리적 특성 평가

2'-FL 투여에 따른 마우스 분변의 특성을 평가하기 위해 4주 간격으로 3회 채취하여 확인한 결과, 4주차까지 채취한 분변에서 물리적인 특성은 나타나지 않았다(Fig. 3). 이후 8주차 2'-FL 고농도군의 분변이 다른 군의 분변보다 색이 밝아지고 상대적으로 경도가 낮았으며, 2'-FL 저농도군은 12주차에 대조군의 분변보다 상대적으로 밝게 나타나는 것이 확인되었다(Fig. 3).

부드러운 분변의 경도는 대장을 통과하는 시간을 단축하여 장의 건강 기능을 유지 하는데 도움이 된다(Deutsch & Stres 2021; Matsuda 등 2021). 이러한 분변의 경도는 수분함량과 관계가 있으며, 이에 따라 분변의 빈도에도 영향을 주어 변비 및 설사의 원인이 된다(Sharma & Rao 2017; Ministry of Food and Drug Safety 2020). 영유아를 대상으로 한 연구에

Table 3. Effects of 2'-FL on the stool water contents

Group	Weeks on study											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Vehicle	62.1±2.1 ¹⁾²⁾	61.7±2.8	62.6±2.8	61.3±2.0	61.8±1.3	61.1±1.8	61.3±0.8	62.6±1.5	62.4±1.7	62.5±1.5	62.9±1.8	61.0±1.0
2'-FL-Low ³⁾	61.3±2.0	60.3±2.2	63.4±1.8	61.5±2.6	64.1±4.4	64.2±4.0	64.5±1.5	63.2±1.8	64.7±1.2	66.2±2.3	66.8±0.9	65.9±1.5*
2'-FL-High ³⁾	61.9±2.3	60.4±1.2	63.0±0.9	66.4±4.3	64.5±1.9	67.1±1.5	64.9±1.6	64.4±2.6	67.3±1.2*	68.1±2.4*	67.3±0.7*	66.8±0.9*

¹⁾ All stool water contents calculated in percent.

²⁾ Data are shown as the mean±SEM, n=8, *p<0.05, vs. control (2-way ANOVA test).

³⁾ 2'-FL-Low: 2'-FL 600 mg/kg/body weight, 2'-FL-High: 2'-FL 1,000 mg/kg/body weight.

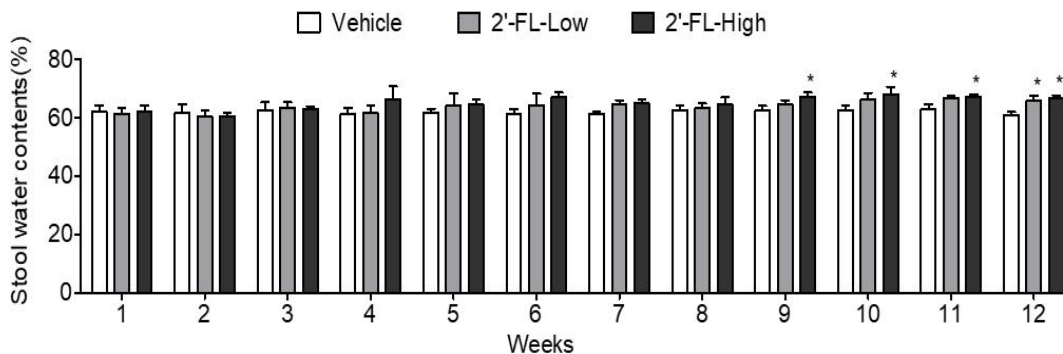


Fig. 2. Effects of 2'-FL on the water contents of stool. Vehicle mice are gavaged saline and had free access to drinking water. HMO, 2'-FL-Low or 2'-FL-High mice were treated with 600 mg/kg 2'-FL or 1,000 mg/kg 2'-FL, respectively, 11 consecutive weeks from 1 week. Data are shown as the mean±SEM, n=8, * $p < 0.05$, vs. control (2-way ANOVA test)

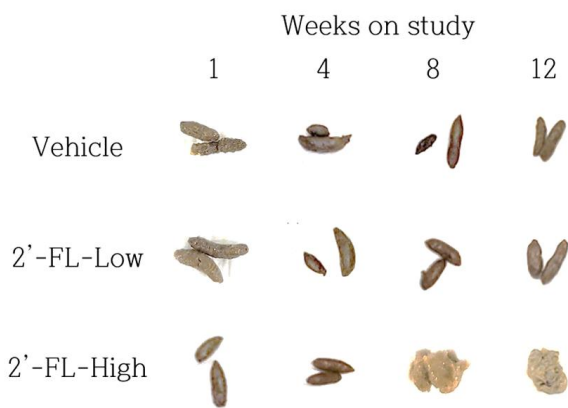


Fig. 3. Effects of 2'-FL on the physical characteristics of stool. The C57BL/6 mice (n=8) were treated with 2'-FL-Low (600 mg/kg) and 2'-FL-High (1,000 mg/kg), and stool samples were collected twice and every 4 weeks.

서, 2'-FL을 포함한 다양한 기능성 올리고당 섭취는 대조군보다 분변의 경도가 상대적으로 낮게 나타났으며, 이는 본 연구에서 2'-FL 고농도군의 분변 경도가 낮은 것과 일치하였다 (Wang 등 2017; Vivatvakin 등 2010; Ramirez-Farias 등 2021).

분변의 색은 색의 밝기와 색상에 따라서 건강 상태를 확인할 수 있는 지표가 된다. 예를 들어, 분변의 색이 녹색일 경우에는 세균 감염, 적색 또는 적갈색의 경우에는 염증성 장 질환을 의심해 볼 수 있으며, 가장 이상적인 분변의 색은 갈색이나 황토색이다(Zuckerman 등 1995; Lee 등 1996; Kim BS 2023). Tateyama 등(2005)의 보고에 따르면, 기능성 올리고당 섭취가 장내 유익균의 성장 활성화를 도와 분변 pH가 감소하고 황색으로 변화하였으며, Elison 등(2016)의 연구에서도 분변의 경도가 묽어지고 황갈색으로의 변화가 보고되었다.

이를 통해 2'-FL 섭취는 분변의 경도를 낮추고, 장내 유익균의 성장을 도와 장내 pH를 낮춤으로써 건강한 분변의 색으로 변화되고 장 건강에 유익한 효과를 나타낸 것으로 사료된다.

4. 모유올리고당 2'-F의 투여에 따른 장내 미생물 변화 분석

2'-FL 투여가 마우스의 장내 미생물에 미치는 영향을 확인한 결과, 유익균인 *Bifidobacterium* spp. 균주는 2'-FL의 농도가 높아질수록 감소한 반면 *Lactobacillus* spp. 균주는 증가하였다(Fig. 4). 또한 유해균인 *Clostridium* spp. 및 *Staphylococcus* spp. 균주는 2'-FL의 농도가 높아질수록 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 4). 유익균인 두 균종이 2'-FL의 섭취에 따른 차이를 보이는 이유는 유익균 간에도 동일한 영양분을 대상으로 경쟁하며, 특히 *Lactobacillus* spp. 균주가 여러 유익균 중에 빠른 성장 속도를 통한 우세한 경향을 나타내는 이전의 결과와 상관관계가 있다고 사료된다(Thongaram 등 2017). *Lactobacillus* spp. 균주는 여러 프로바이오틱스 균주 중에서도 유해균 저해 효과가 가장 뛰어나다는 보고가 있다(Thongaram 등 2017).

이와 같이 유익균은 대사활동을 통한 장내 pH를 낮추어 유해균의 성장 억제 및 장 상피세포에 부착하는 것을 저해한다(Gibson & Wang 1994; Lewis 등 2015; Matsuki 등 2016; Smith-Brown 등 2016; Yu 등 2016). 이러한 유익균의 대사활동을 증진 시키는 것으로 2'-FL과 같은 기능성 다당류가 알려져 있으며(Kwon & Lee 2002), 이 중 극소량만이 소장에서 흡수되고 다량의 기능성 다당류는 장내 세균이 존재하는 대장까지 이동한다(Gevers 등 2012). 이와 같이 대장까지 이동한 2'-FL은 유익균들의 에너지원으로서 이용되기도 하지만, 독소를 지닌 여러 병원성 미생물이 장 상피 표면에 부착하는 것을 직접적으로 억제하기도 한다(Ruiz-Palacios 등 2003;

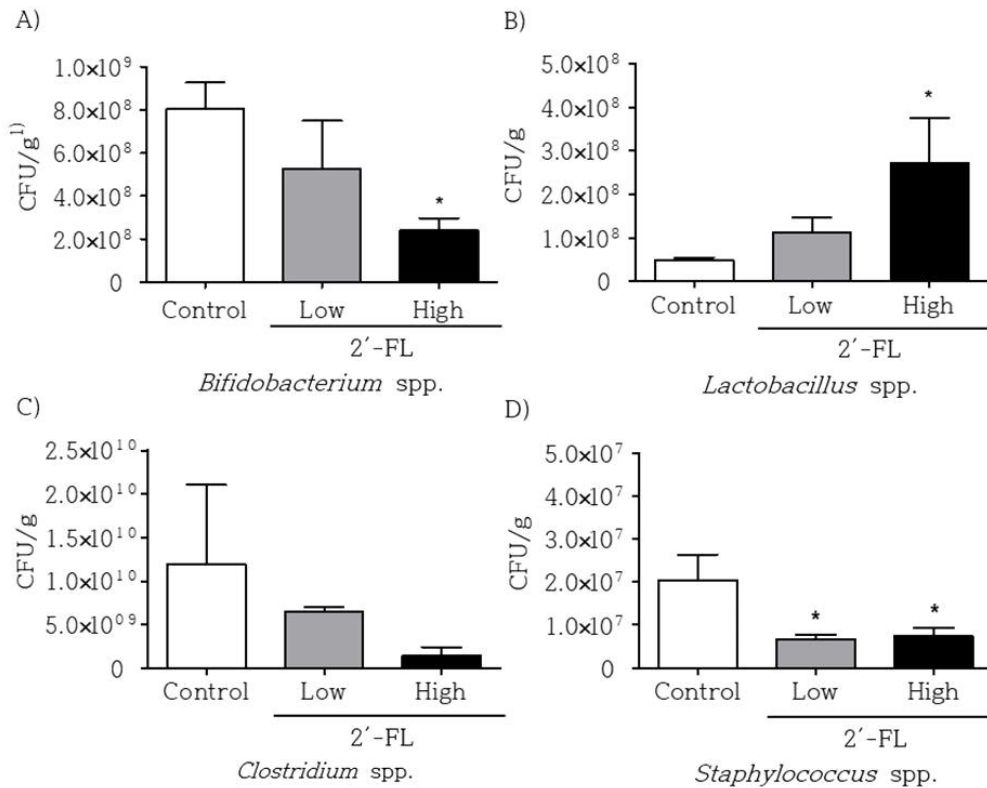


Fig. 4. Effects of 2'-FL on the changes of intestinal microbiom. The relative abundance (%) of the major bacteria in C57BL6/J mice small intestines distinguished by groups. (A) *Bifidobacterium* spp., (B) *Lactobacillus* spp., (C) *Clostridium* spp., (D) *Staphylococcus* spp. Data are shown as the mean±SEM, n=8, **p*<0.05, vs. control (2-way ANOVA test). ¹⁾ CFU (colony forming unit)/g (feces weight).

Newburg 등 2004).

이상의 결과를 바탕으로, 2'-FL의 섭취가 유해균의 저해 효과가 높은 *Lactobacillus* spp.의 성장을 증진 시키고, 더불어 유해균의 성장을 감소시켜 장내 환경을 개선시키는 것으로 사료 된다.

요약 및 결론

본 연구는 모유올리고당 2'-FL 섭취로 인한 정상 마우스의 체중 변화, 배변 활동 및 장내 미생물의 조성 변화에 미치는 영향을 평가하였다. 먼저 2'-FL 섭취에 따른 체중 변화는 관찰되지 않았으며, 9주차부터 분변의 수분함량과 빈도가 유의적으로 증가하였고, 4주차부터 분변의 물리적 변화 및 색의 밝기가 증가하는 것을 확인하였다. 또한 장내 미생물 분석 결과, 2'-FL 섭취로 인한 유익균인 *Lactobacillus* spp. 균주의 증가와 유해균인 *Clostridium* spp. 및 *Staphylococcus* spp. 균주의 감소를 확인하였다. 이와 같은 연구 결과를 종합하여 보았을 때, 2'-FL 섭취는 정상 마우스의 배변 활동과 장내 미생

물 변화에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 판단된다. 결론적으로, 2'-FL의 섭취는 장 건강과 건강한 배변 활동 유지에 긍정적인 효과를 줄 것으로 사료되며, 2'-FL의 장기능 개선 기능성 원료로 개발에 도움이 되는 기초자료를 제공하고자 한다.

감사의 글

본 논문은 2022년도 (주)에이피테크놀로지(수원, 대한민국)로부터 시험물질과 연구비(세부과제번호: ERT2111290) 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- Andrews CN, Storr M. 2011. The pathophysiology of chronic constipation. *Can J Gastroenterol* 25:1693-19
- Ballard O, Morrow AL. 2013. Human milk composition: Nutrients and bioactive factors. *Pediatr Clin North Am* 60:49-74

- Bode L. 2012. Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama. *Glycobiology* 22:1147-1162
- Bouhnik Y, Raskine L, Simoneau G, Vicaut E, Neut C, Flourié B, Brouns F, Bornet FR. 2004. The capacity of nondigestible carbohydrates to stimulate fecal bifidobacteria in healthy humans: A double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group, dose-response relation study. *Am J Clin Nutr* 80:1658-1664
- Bourlioux P, Koletzko B, Guarner F, Braesco V. 2003. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: Report on the Danone Symposium "The Intelligent Intestine," held in Paris. *Am J Clin Nutr* 78:675-683
- Deutsch L, Stres B. 2021. The importance of objective stool classification in fecal 1H-NMR metabolomics: Exponential increase in stool crosslinking is mirrored in systemic inflammation and associated to fecal acetate and methionine. *Metabolites* 11:172
- Elison E, Vignsnaes LK, Krogsgaard LR, Rasmussen J, Sørensen N, McConnell B, Hennet T, Sommer MOA, Bytzer P. 2016. Oral supplementation of healthy adults with 2'-O-fucosyllactose and lacto-N-neotetraose is well tolerated and shifts the intestinal microbiota. *Br J Nutr* 116:1356-1368
- Facinelli B, Marini E, Magi G, Zampini L, Santoro L, Catassi C, Monachesi C, Gabrielli O, Coppa GV. 2019. Breast milk oligosaccharides: Effects of 2'-fucosyllactose and 6'-sialyllactose on the adhesion of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* to Caco-2 cells. *J Matern Fetal Neonatal Med* 32:2950-2952
- Farhin S, Wong A, Delungahawatta T, Amin JY, Bienenstock J, Buck R, Kunze WA. 2019. Restraint stress induced gut dysmotility is diminished by a milk oligosaccharide (2'-fucosyllactose) *in vitro*. *PLOS ONE* 14:e0215151
- Fiordaliso M, Kok N, Desager JP, Goethals F, Deboyser D, Roberfroid M, Delzenne N. 1995. Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats. *Lipids* 30:163-167
- German JB, Freeman SL, Lebrilla CB, Mills DA. 2008. Human milk oligosaccharides: evolution, structures and bioselectivity as substrates for intestinal bacteria. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program* 62:205-222
- Gevers D, Knight R, Petrosino JF, Huang K, McGuire AL, Biren BW, Nelson KE, White O, Methé BA, Huttenhower C. 2012. The human microbiome project: A community resource for the healthy human microbiome. *PLOS Biol* 10:e1001377
- Gibson GR, Wang X. 1994. Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria. *J Appl Bacteriol* 77:412-420
- Gibson GR. 1999. Dietary modulation of the human gut microflora using the prebiotics oligofructose and inulin. *J Nutr* 129:1438S-1441S
- Good M, Sodhi CP, Yamaguchi Y, Jia H, Lu P, Fulton WB, Martin LY, Prindle T Jr, Nino DF, Zhou Q, Ma C, Ozolek JA, Buck RH, Goehring KC, Hackam DJ. 2016. The human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose attenuates the severity of experimental necrotising enterocolitis by enhancing mesenteric perfusion in the neonatal intestine. *Br J Nutr* 116:1175-1187
- Han NS, Kim TJ, Park YC, Kim J, Seo JH. 2012. Biotechnological production of human milk oligosaccharides. *Biotechnol Adv* 30:1268-1278
- Kim BS. 2023. Human Stool image analysis based on deep learning for smart home healthcare system. Ph.D. Thesis, Pukyong National Univ. Busan. Korea
- Kleessen B, Stoof G, Proll J, Schmiedl D, Noack J, Blaut M. 1997. Feeding resistant starch affects fecal and cecal microflora and short-chain fatty acids in rats. *J Anim Sci* 75:2453-2462
- Kulinich A, Liu L. 2016. Human milk oligosaccharides: The role in the fine-tuning of innate immune responses. *Carbohydr Res* 432:62-70
- Kwon Y, Lee S. 2002. Effects of *Bifidobacteria* and oligosaccharides on the quality attributes of frozen soy yogurts. *Korean J Soc Food Cookery Sci* 18:43-50
- Lee G, Park SS, Lee WC. 1996. A study on the Han, fecal, and urine in Sasang constitutional medicine. *Korean J Orient Int Med* 17:123-138
- Lewis ZT, Totten SM, Smilowitz JT, Popovic M, Parker E, Lemay DG, Van Tassell ML, Miller MJ, Jin YS, German JB, Lebrilla CB, Mills DA. 2015. Maternal fucosyltransferase 2 status affects the gut bifidobacterial communities of breastfed infants. *Microbiome* 3:13
- Maloy KJ, Powrie F. 2011. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature* 474:298-306
- Mao B, He Z, Chen Y, Stanton C, Ross RP, Zhao J, Chen W, Yang B. 2022. Effects of *Bifidobacterium* with the ability of 2'-fucosyllactose utilization on intestinal microecology of mice. *Nutrients* 14:5392

- Marriage BJ, Buck RH, Goehring KC, Oliver JS, Williams JA. 2015. Infants fed a lower calorie formula with 2'FL show growth and 2'FL uptake like breast-fed infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 61:649-658
- Martinez-Ferez A, Rudloff S, Guadix A, Henkel CA, Pohlentz G, Boza JJ, Guadix EM, Kunz C. 2006. Goats' milk as a natural source of lactose-derived oligosaccharides: Isolation by membrane technology. *Int Dairy J* 16:173-181
- Matsuda K, Akiyama T, Tsujibe S, Oki K, Gawad A, Fujimoto J. 2021. Direct measurement of stool consistency by texture analyzer and calculation of reference value in Belgian general population. *Sci Rep* 11:2400
- Matsuki T, Yahagi K, Mori H, Matsumoto H, Hara T, Tajima S, Ogawa E, Kodama H, Yamamoto K, Yamada T, Matsumoto S, Kurokawa K. 2016. A key genetic factor for fucosyllactose utilization affects infant gut microbiota development. *Nat Commun* 7:11939
- Ministry of Food and Drug Safety. 2020. Functional evaluation guideline of health functional food. Available from https://www.mfds.go.kr/brd/m_1060/view.do?seq=14660&srchFr=&srchTo=&srchWord=%EC%9E%A5+%EA%B1%B4%EA%B0%95&srchTp=0&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&Data_stts_gubun=C9999&page=1 [cited 22 June 2023]
- Morrow AL, Ruiz-Palacios GM, Altaye M, Jiang X, Guerrero ML, Meinen-Derr JK, Farkas T, Chaturvedi P, Pickering LK, Newburg DS. 2004. Human milk oligosaccharide blood group epitopes and innate immune protection against *Campylobacter* and calicivirus diarrhea in breastfed infants. In Pickering LK, Morrow AL, Ruiz-Palacios GM, Schanler RJ (Eds.), *Protecting Infants through Human Milk. Advancing the Scientific Evidence*, Vol. 554. pp.443-446. Springer
- Na MH, Kim WK. 2007. Effects of xylooligosaccharide intake on fecal Bifidobacteria, lactic acid and lipid metabolism in Korean young women. *J Nutr Health* 40:154-161
- Newburg DS, Ruiz-Palacios GM, Altaye M, Chaturvedi P, Lourdes Guerrero M, Meinen-Derr JK, Morrow AL. 2004. Human milk α 1,2-linked fucosylated oligosaccharides decrease risk of diarrhea due to stable toxin of *E. coli* in breastfed infants. In Pickering LK, Morrow AL, Ruiz-Palacios GM, Schanler RJ (Eds.), *Protecting Infants through Human Milk. Advancing the Scientific Evidence*, Vol. 554. pp.457-461. Springer
- Niñonuevo M, An H, Yin H, Killeen K, Grimm R, Ward R, German B, Lebrilla C. 2005. Nanoliquid chromatography-mass spectrometry of oligosaccharides employing graphitized carbon chromatography on microchip with a high-accuracy mass analyzer. *Electrophoresis* 26:3641-3649
- Ogata T, Nakamura T, Anjitsu K, Yaeshima T, Takahashi S, Fukuwatari Y, Ishibashi N, Hayasawa H, Fujisawa T, Iino H. 1997. Effect of *Bifidobacterium longum* BB536 administration on the intestinal environment, defecation frequency and fecal characteristics of human volunteers. *Biosci Microflora* 16:53-58
- Ramirez-Farias C, Baggs GE, Marriage BJ. 2021. Growth, tolerance, and compliance of infants fed an extensively hydrolyzed infant formula with added 2'-FL fucosyllactose (2'-FL) human milk oligosaccharide. *Nutrients* 13:186
- Rho JH, Kim MH. 2011. Foods, digesting and absorbing. *Bull Food Technol* 24:498-524
- Robinson RR, Feirtag J, Slavin JL. 2001. Effects of dietary arabinogalactan on gastrointestinal and blood parameters in healthy human subjects. *J Am Coll Nutr* 20:279-285
- Ruiz-Palacios GM, Cervantes LE, Ramos P, Chavez-Munguia B, Newburg DS. 2003. *Campylobacter jejuni* binds intestinal H(O) antigen (Fuca1, 2Gal β 1, 4GlcNAc), and fucosyloligosaccharides of human milk inhibit its binding and infection. *J Biol Chem* 278:14112-14120
- Sharma A, Rao S. 2017. Constipation: Pathophysiology and current therapeutic approaches. In Greenwood-Van Meerveld B (Ed.), *Gastrointestinal Pharmacology. Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol. 239. pp.59-74. Springer
- Smith-Brown P, Morrison M, Krause L, Davies PSW. 2016. Mothers secretor status affects development of childrens microbiota composition and function: A pilot study. *PLOS ONE* 11:e0161211
- Soyylmaz B, Mikš MH, Röhrig CH, Matwiejuk M, Meszaros-Matwiejuk A, Vignæs LK. 2021. The mean of milk: A review of human milk oligosaccharide concentrations throughout lactation. *Nutrients* 13:2737
- Tateyama I, Hashii K, Johno I, Iino T, Hirai K, Suwa Y, Kiso Y. 2005. Effect of xylooligosaccharide intake on severe constipation in pregnant women. *J Nutr Sci Vitaminol* 51:445-448
- Thongaram T, Hoeflinger JL, Chow J, Miller MJ. 2017. Human milk oligosaccharide consumption by probiotic and human-associated bifidobacteria and lactobacilli. *J Dairy Sci*

100:7825-7833

- Vázquez E, Barranco A, Ramírez M, Gruart A, Delgado-García JM, Martínez-Lara E, Blanco S, Martín MJ, Castanys E, Buck R, Prieto P, Rueda R. 2015. Effects of a human milk oligosaccharide, 2'-fucosyllactose, on hippocampal long-term potentiation and learning capabilities in rodents. *J Nutr Biochem* 26:455-465
- Vivatvakin B, Mahayosnond A, Theamboonlers A, Steenhout PG, Conus N. 2010. Effect of a whey-predominant starter formula containing LCPUFAs and oligosaccharides (FOS/GOS) on gastrointestinal comfort in infants. *Asia Pac J Clin Nutr* 19:473-480
- Wang L, Hu L, Yan S, Jiang T, Fang S, Wang G, Zhao J, Zhang H, Chen W. 2017. Effects of different oligosaccharides at various dosages on the composition of gut microbiota and short-chain fatty acids in mice with constipation. *Food Funct* 8:1966-1978
- Wheeler RR, Katzmann RA. 2006. A primer on interbranch relations. *Geo L J* 95:1155
- Yu ZT, Nanda Nanthakumar N, Newburg DS. 2016. The human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose quenches *Campylobacter jejuni* - induced inflammation in human epithelial cells HEp-2 and HT-29 and in mouse intestinal mucosa. *J Nutr* 146:1980-1990
- Zehra S, Khambati I, Vierhout M, Firoz Mian M, Buck R, Forsythe P. 2018. Human milk oligosaccharides attenuate antigen - antibody complex induced chemokine release from human intestinal epithelial cell lines. *J Food Sci* 83:499-508
- Zuckerman GR, Trellis DR, Sherman TM, Clouse RE. 1995. An objective measure of stool color for differentiating upper from lower gastrointestinal bleeding. *Dig Dis Sci* 40:1614-1621

Received 11 April, 2023

Revised 7 June, 2023

Accepted 16 June, 2023