The Journal of the Convergence on Culture Technology (JCCT)
Vol. 10, No. 3, pp. 865-872, May 31, 2024. pISSN 2384-0358, eISSN 2384-0366

http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2024.10.3.865
JCCT 2024-5-98

로페로마이드로 유도한 변비랫드 모델에서 프락토올리고당 및 과채복합 추출물의 변비개선 효과

Effects of Fructooligosaccharide and Fruit and Vegetable Complex Extracts on Loperamide-induced Constipation in Rats

김현경*

Hyun Kyoung Kim*

요 약 Loperamide에 의한 변비는 위 배출, 소장 및 대장 운동성을 감소시켰으며, 과채복합추출물(Fruit and vegetable complex extracts, FVCE)은 이러한 효과를 예방한다. 우리는 다음과 같은 실험에서 로페로마이드(3 mg/kg, sc, 14일)로 유발된 변비 수컷 Sprague-Dawley 쥐에 대한 프락토올리고당 및 과채복합추출물의 효과를 조사하였다. 쥐를 무작위로 정상대조군 쥐(일반식이), 변비 쥐(일반식이 + 로페로마이드), 200mg FVCE(200mg/kg/day FVCE + 로페로마이드가 보충된 일반 식이)로 처리한 변비 쥐, 400mg FVCE로 처리한 변비 쥐(200mg/kg/day FVCE와 로페로마이드가 보충된 일반 식단)으로 시험군을 구성하였다. 대조군 쥐에 비해 로페로마이드로 처리된 쥐에서 대변 배설량이 적고 대변 수분 함량이 더 낮았다. FVCE을 경구투여 하면 분변배설량의 감소를 억제하고 로페로마이드로 처리된 쥐의 대변 수분 함량. 로페로마이드를 처리한 쥐에서는 대장선와세포의 점액 생성과 대변 및 점막 표면의 점액 함량이 감소하였다. 그러나 FVCE 처리군에서는 대장선와세포의 뮤신 함량이 증가하였고, Aclain blue로 염색된 점액층은 로페로마이드 처리군에 비해 FVCE 처리군에서 유의적으로 두꺼워졌다. 쥐 회장에서 로페로마이드는 회장 운동성을 억제한다. 이러한 결과는 FVCE가 로페로마이드에 의한 대장 연동 운동 억제 완화에 효과적이며 FVCE추출물이 변비 예방에 효과적 일 수 있다는 것을 나타낸다.

주요어 : 프락토올리고당, 변비, 로페로마이드, 과채복합추출물, 배변 효과

Abstract Loperamide-induced constipation reduced gastric emptying, small-intestinal and colonic motility, and these effects were prevented by Fruit and vegetable complex extracts(FVCE). In this study, the effects of FVCE on constipated male Sprague-Dawley rats induced by loperamide(3 mg/kg, s.c.,14 days) were investigated. Rats were randomly assigned to the normal control rats(regular diet), constipated rats(regular diet plus loperamide), constipated rats treated with 200 mg FVCE(regular diet supplemented with 200 mg/kg/day FVCE plus loperamide), constipated rats treated with 400 mg FVCE(regular diet supplemented with 400 mg/kg/day FVCE plus loperamide). There was less fecal excretion and lower fecal water content in loperamide-treated rats than in control rats. Oral administration of FVCE blocked the decrease of fecal excretion and fecal water content in the loperamide-treated rats. Mucus production of crypt cell and mucus contents at fecal and mucosa surface were reduced by loperamide-treated rat. But colonic crypt cell contained increased mucin in the FVCE treated group and mucus layer stained with alcian blue was significantly thicker in FVCE treated rats compared with in loperamide-treated rats. In isolated rat ileum, loperamide produced inhibition of ileal motility. Pretreatment with water extracts of FVCE in isolated rat ileum prevented inhibition by loperamide. These findings indicated that the FVCE was effective for alleviation of inhibition of colonic peristalsis by loperamide and that FVCE might be of value in the prevention of constipation.

Key words : Fructooligosaccharide, Constipation, Loperamide, Frut and vegetabkes complex extracts, Improving constipation

*정회원, 서원대학교 식품공학과 조교수(제1저자)
접수일: 2024년 3월 3일, 수정완료일: 2024년 4월 1일
게재확정일: 2024년 5월 5일

Received: March 3, 2024 / Revised: April 1, 2024
Accepted: May 5, 2024
*Corresponding Author: Kimhk4@seowon.ac.kr
Dept. of Food Science and Enginerring, Seowon Univ, Korea

Ⅰ. 서 론

근래의 식생활은 생활 수준의 급속한 향상으로 인해 고지방과 고단백질이 함유된 육류와 인스턴트 식품 등의 고칼로리를 가지는 식품의 섭취가 증가된 반면에 채소나 섬유질을 함유하는 식품의 섭취가 감소됨으로써 성인병과 비만 환자가 날로 증가되고 있다[1,2]. 이러한 식생활의 변화는 고지혈증, 비만, 변비 등의 생리적 변화를 유발시켜 다양한 만성퇴행성 질환으로 인한 대사 증후군의 발병 원인이 된다[3]. 변비(constipation)는 예로부터 만병의 근원으로 일컬어지고 있으며, 배설되지 못한 변의 독소가 장으로 흡수되어 혈액에 흡수됨으로써 피부노화를 촉진시키고 두통이나 여드름, 피부 발진 등이 나타나며, 심하면 배변 시 치열의 파손과 치핵의 탈출 등 치질의 원인이 되고, 대장암까지 발생된다[4,5]. 변비는 대장의 연동운동 저하로 원활한 배변운동을 하지 못하는 질환이다. 일반적으로 1주일에 2회 이상을 배출하지 못하면서 배변 시 굳은 변을 보며 통증이나 출혈이 동반되는 경우를 변비로 진단하는데, 그 증상으로는 일반적으로 하복부의 불쾌감, 팽만감, 구역질, 구토, 복통 등이 수반된다. 이러한 변비증상은 일반적으로 남성보다 여성에게서 3~4배 정도 높을 뿐만 아니라 변비를 동반한 대사성 질환 등의 질병을 호소하는 사람이 점차 증가하고 있다. 최근 우리나라의 변비 유병률은 16.5%로 여성 및 노인층에서 증가하고 있는 실정이다. 이는 인스턴트 식품 및 고칼로리 식품의 섭취 증가와 야채류 및 섬유질의 섭취 감소와 같은 영양 과잉 또는 영양 불균형에 따른 식습관 문제에 의한 것으로 나타났다. 특히 여성의 경우 체중감량을 목적으로 식이섭취량이 상대적으로 적거나 결식률이 높게 나타나는 것으로 보고된 바 있다. 이로 인해 영양불균형을 초래하고 정상적인 배변습관을 갖는데 어려움을 느끼는 여성층이 증가하고 있으며, 이러한 식생활의 변화 및 생활습관은 변비증상을 더욱 증가시키는 원인으로 작용하고 있다.

따라서 본 실험에서는 Loperamide로 유도한 변비 Sprague-Dawley 랫드 모델에서 프락토올리고당 및 과채류복합 추출물을 2 주간 경구투여 하였을 때, 시험물질이 변비에 대한 개선효과를 알아보고자 실시하였다.

Ⅱ. 연구재료 및 방법

1. 실험동물 및 시약

8주령(체중 300-350 g)의 Sprague-Dawley 수컷 흰 쥐를 (주)샘타코에서 구입하여, 1주일간 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 사육환경은 온도 20~22℃ 습도 50-55%이었으며, 명암주기는 12시간 단위로 조절되었다. 실험동물은 Wire-drop bottom cage에 한 마리씩 넣어 사육하였으며, 물과 사료는 자유 급이 시켰다. 프락토올리고당(분말, 역가 90%)을 구입하여 사용하였으며 과채혼합농축액(Birix 60%)를 제조하여 사용하였다. Loperamide는 Sigma (St. Louis MO, USA) 제품을 사용하였으며 기타시약은 일반 특급시약을 사용하였다.

2. 시험군의 구성 및 투여 용량 설정

시험군의 구성은 G1(Normal Saline(NS), 정상군), G2(Loperamide(Lop), 대조군), G3(Lop+ Dulcolax-S, 5.5 mg/kg/day), G4(Lop+ Fructooligosaccharide, 200 mg/kg/day), G5(Lop+ 시험물질 저용량 투여군, 200 mg/kg/day) 및 G6(Lop+시험물질 고용량 투여군, 400 mg/kg/day)로 하였으며, 정상군(G1)을 제외한 모든 투여군(G2 ~ G6)은 Loperamide(3 mg/kg)를 멸균생리식염수에 녹인 후 3 mL/kg로 경구 투여하고, 약 1 시간 뒤에 모든 투여군에 해당 물질을 각각 14 일간 경구 투여하였다[6].

시험물질 투여물질 액상(G4 ~ G6)을 FOS만 투여하는 G4군을 200 mg/kg/day로 설정하였고, 시험물질 200 및 400 mg/kg/day를 투여하는 시험물질 투여군 G5 및 G6에 각각 설정하였다. 또한, Dulcolax-S만 투여하는 G3군(양성대조군)을 5.5 mg/kg/day로 설정하고, 부형제인 멸균증류수만을 투여하는 G1 및 G2군을 0 mg/kg/day로 설정하였다(Table 1).

3. 변 중량

변 중량은 투여개시 전, 투여개시 후에 약 3 일 간격(4, 7, 10 및 14 일)으로 측정하였다. 비슷한 시간대에 변의 중량을 측정하고, 측정한 변의 일부(약 3 g)를 채취하여 수분함량을 산출하였다.

4. 변 수분함량

샘플을 담을 용기를 70 ℃ 오븐에 약 3 시간 정도 말린 후 빈 용기의 중량을 측정하였다. 샘플(약 3 g)을 말린 용기에 올린 후 중량을 측정하였다. 변의 수분함량은 변을

70 ℃ 오븐에서 24 시간 동안 건조시켜 건 중량을 측정하고 변 중량과 건 중량의 차이를 변중량으로 나누어 계산하였다.

수분함량(%) = (건조전 중량) - (건조후 중량) x 100 / 건조전 중량

장 이후 부분부터 직장까지 부위를 적출하여, 변의 개수를 측정하고 사진을 촬영하여 형태를 관찰하였다.

7. 점액질의 두께 및 분비세포의 활성도 측정

대장은 조직 처리 과정을 거친 후, 파라핀 처리하여 5 ㎛ 두께로 절편을 제작한 후 alcian blue (pH

표 1. 시험군 구성 및 투여 용량
Table 1. Experimental group and administered dose.

Experimental substance	Experimental substance	Administration Dose (mg/kg)	Dosage amount (mL/kg)	Sex	Animal number
1. Normal Saline(NS) + Sterilized distilled water (SDW); NSS	G1(NS + S Normal group)	0 + 0	3 + 3	male	7
2. Loperamide(Lop) + SDW; LS	G2(Lop + Control group)	3 + 0	3 + 3	male	7
3. Lop + Dulcolax-S(DS) ; LD	G3(Lop + Positive control group)	3 + 5.5	3 + 3	male	7
4. Lop + Fructo oligosaccharide (FOS); LF	G4(Lop + FOS group)	3 + 200	3 + 3	male	7
5. Lop + TL(Test Low); LTL	G5(Lop + Test Low Dosage)	3 + 200	3 + 3	male	7
6. Lop + TH(Test High); LTH	G6(Lop + Test High Dosage)	3 + 460	3 + 3	male	7

T : Fructooligosaccharide and Fruit & Vegetable complex Extracts.

5. 생화학적 분석

모든 생존동물에서 실시하였으며, 계획부검동물에 대해서는 채혈 전에 하룻밤 동안 절식(음용수는 제공)하였다. 부검일에 동물을 흡입마취제로 마취하였고, 마취가 확인되면 개복하여 복대동맥에서 채혈을 실시하였다. 채혈한 혈액 약 2 mL 이상을 항응고제가 없는 튜브에 담고 상온에서 약 5 분 이상 방치하여 응고시켰다. 원심분리(3000 rpm, 10 분, 4 ℃)로 혈청을 분리하여 아래의 항목에 대해 생화학분석기로 측정하였다.

6. 조직병리학적 검사

투여 15 일에 임상병리 검사를 위해 채혈을 실시한 모든 개체는 부검을 위하여 복대동맥 및 후대정맥을 절단하여 방혈 / 치사 시켰다. 이후 부검소견을 확인하기 위하여 외관, 두부, 흉강 및 복강 등 전신의 모든 장기 및 조직을 육안으로 관찰하였다.

장내 변 개수는 실험 최종일 모든 실험동물의 대장은 맹

2.5)로 염색하여 광학현미경(x 100, x 200)으로 각 조직 샘플에서 점액질 층이 상대적으로 가장 두꺼운 부분 3 곳을 측정하여 점액질의 두께를 계산하였다. 점액질의 두께 측정시 조직촬영프로그램(ZEN pro, Version 3.5, Carl Zeiss, Germany)를 통해 점액질의 면적 및 장축 길이를 측정한 뒤, 면적을 장축 길이로 나누어 표준화된 두께를 측정하였다[7]. Mucin 2 의 항체 AB272692(abcam, Anti-MUC2)을 marker로 사용하여 면역조직화학법으로 mucin 2 로 염색된 대장관 내 세포를 관찰하였고, 촬영한 이미지를 이미지프로그램(ImageJ, Vesion 1.54d, National Institute of Health, USA)으로 분석하여 Mucin 2 양성으로 나타난 면적을 측정하였다[8,9].

6. 통계처리

체중, 사료섭취량, 변 중량, 변 수분함량, 생화학적 검사, 변 개수 및 점액질의 두께는 모수적인 방법인 일

원배치분산분석(One-way ANOVA test)으로 유의성을 확인 후 Levene test로 등분산성을 검정하였고, 사후검정에서 등분산인 경우 모수적 방법인 분산분석으로 집단 간 평균의 차이를 검정하였다. 사후분석으로 등분산일 경우 Scheffe multiple range test를 이용하여 대조군과의 유의성을 검정하였고, 이분산인 경우에는 Dunnett's T3-test를 이용하여 대조군과의 유의성을 검정하였다. 통계학적 분석은 상용으로 널리 사용되고 있는 통계 패키지인 SPSS(IBM®SPSSStatistics)를 이용하여 실시하였으며, $p < 0.05$인 경우 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

III. 연구결과

1. 변 중량 분석

표 2에서 보는바와 같이 모든 투여군에서 정상군 대비 유의적인 변화는 관찰되지 않아서, 본 시험 조건하에서 변중량의 변화에는 영향을 주지 않는 것으로 사료되었다(Table 2).

2. 변수분 함량

표 3에서 보는바와 같이 G2(Lop + 대조군)군의 투여 14 일 변 수분함량이 G1(NS + S 정상군)군과 비교하여 약 22 %의 수분함량 감소가 관찰되어 Loperamide(Lop) 투여에 의한 변비 모델이 유도된 것으로 사료되었다. 그러나, G3(Lop + Dulcolax-S) 및 G6(Lop + 시험물질 고용량 투여군)군의 투여 14일 변 수분함량이 G2(Lop + 대조군)군과 비교하여 각각 약 10 % 및 22 %의 증가가 관찰되어 변비 개선 효과가 있는 것으로 사료되었다 (Table 3).

3. 생화학적 검사

표 4에서 보는바와 같이 Loperamide 5 mg/kg/day를 2주간 경구 투여한 쥐의 간에서 담즙산(TBA)이 과도하게 축적되는 것으로 보고되었다[8]. G2(Lop+ 대조군), G4(Lop+Fructooligosaccharide) 및 G6(Lop +시험물질 고용량 투여군)군에서 담즙산(TBA)이 G1(NS+S 정상군)군과 비교하여 증가 경향이 관찰되어 Loperamide(Lop) 투여에 의한 변비 모델이 유도된 것으로 사료되었으며, G3(Lop+Dulcolax-S) 및 G5(Lop+시험물질 저용량 투여군)군에서 G2(Lop + 대조군)군과 비교하여 감소 경향이 관찰되었다(Table 4).

표 2. 변 중량
Table 2. Fecal weights.

Group		Day				
		1	4	7	10	14
G1(NS + S Normal group)	Mean	7.9	8.8	9.0	9.8	12.0
	S.D	0.7	0.9	1.0	1.1	0.9
	N	7	7	7	7	7
G2(Lop + Control group)	Mean	7.8	7.3	7.9	9.7	11.3
	S.D	1.0	0.7	1.0	0.8	0.9
	N	7	7	7	7	7
G3(Lop + Positive control group)	Mean	7.9	8.8	9.4	10.8	12.1
	S.D	0.6	0.7	0.9	0.6	0.9
	N	7	7	7	7	7
G4(Lop + FOS group)	Mean	7.6	8.0	8.8	10.2	11.8
	S.D	0.7	0.8	1.0	1.1	1.2
	N	7	7	7	7	7
G5(Lop + Test Low Dosage)	Mean	7.6	8.3	8.9	10.5	11.9
	S.D	1.0	0.7	1.2	1.2	1.1
	N	7	7	7	7	7
G6(Lop + Test High Dosage)	Mean	8.1	8.5	9.0	10.7	12.3
	S.D	1.1	0.9	1.0	0.6	1.1
	N	7	7	7	7	7

S.D: Standard deviation, N:Number of animals, Ns: Normal Saline, LS: Loperamide(Lop), LD: Lop+Ducolax-S, LF: Lop + Fructooligosaccharide, LTL: Lop+TL(TEst Low), LTH: Lop+TH(Test High)

표 3. 변 수분 함량
Table 3. Water content of Feaces.

Group		Day				
		1	4	7	10	14
G1(NS + S Normal group)	Mean	22.7	22.9	29.5	25.7	36.3
	S.D	1.3	1.7	1.9	3.5	12.0
	N	7	7	7	7	7
G2(Lop + Control group)	Mean	25.3	23.6	29.2	26.0	28.4
	S.D	3.2	1.5	5.2	2.3	1.6
	N	7	7	7	7	7
G3(Lop + Positive control group)	Mean	28.6	25.5	28.3	25.4	31.4
	S.D	8.7	2.7	3.8	2.1	5.7
	N	7	7	7	7	7
G4(Lop + FOS group)	Mean	25.3	24.7	26.1	24.2	30.6
	S.D	4.3	3.1	2.5	2.3	10.7
	N	7	7	7	7	7
G5(Lop + Test Low Dosage)	Mean	24.5	22.9	25.2	25.5	30.1
	S.D	2.0	1.5	2.0	3.2	3.3
	N	7	7	7	7	7
G6(Lop + Test High Dosage)	Mean	24.6	25.3	29.4	29.0	36.4
	S.D	2.7	3.0	2.5	8.4	16.7
	N	7	7	7	7	7

S.D: Standard deviation, N:Number of animals, Ns: Normal Saline, LS: Loperamide(Lop), LD: Lop+Ducolax-S, LF: Lop + Fructooligosaccharide, LTL: Lop+TL(TEst Low), LTH: Lop+TH(Test High)

표 4. 생화학 검사
Table 4. Clinical Biochemistry.

Group		ALB (g/dL)	ALP (U/L)	ALT (U/L)	AST (U/L)	BUN (mg/dL)	Ca (mg/dL)	CK (U/L)
G1(NS + S Normal group)	Mean	2.4	508	44	109	16.3	9.7	569
	S.D	0.1	56	4	13	1.2	0.2	325
	N	7	7	7	7	7	7	7
G2(Lop + Control group)	Mean	2.4	541	41	90	17.3	9.8	53.7
	S.D	0.1	98	7	24	2.6	0.3	427
	N	7	7	7	7	7	7	7
G3(Lop + Positive control group)	Mean	2.4	546	43	92	17.1	9.8	453
	S.D	0.1	87	5	10	1.7	0.1	226
	N	7	7	7	7	7	7	7
G4(Lop + FOS group)	Mean	2.5	604	43	97	16.9	9.7	458
	S.D	0.2	132	6	18	1.4	0.3	254
	N	7	7	7	7	7	7	7
G5(Lop + Test Low Dosage)	Mean	2.5	544	38	93	17.8	9.7	420
	S.D	0.1	74	4	23	2.2	0.4	296
	N	7	7	7	7	7	7	7
G6(Lop + Test High Dosage)	Mean	2.5	622	43	107	16.5	9.6	610
	S.D	0.1	134	4	28	1.6	0.3	507
	N	7	7	7	7	7	7	7

Group		Crea (mg/dL)	GGT (U/L)	Glu (mg/dL)	HDL (mg/dL)	IP (mg/dL)	LDL (mg/dL)	T-Bil (mg/dL)
G1(NS + S Normal group)	Mean	0.41	1.13	188	21.5	7.6	13.8	0.02
	S.D	0.04	0.20	24	3.2	0.5	3.4	0.01
	N	7	7	7	7	7	7	7
G2(Lop + Control group)	Mean	0.39	0.84	183	21.0	7.4	13.7	0.03
	S.D	0.03	0.27	27	2.1	0.6	2.5	0.01
	N	7	7	7	7	7	7	7
G3(Lop + Positive control group)	Mean	0.40	1.25	166	20.9	7.6	12.2	0.03
	S.D	0.02	0.43	28	3.2	0.5	2.0	0.01
	N	7	7	7	7	7	7	7
G4(Lop + FOS group)	Mean	0.38	1.25	178	23.6	7.4	12.9	0.03
	S.D	0.03	0.15	17	3.3	0.3	2.1	0.01
	N	7	7	7	7	7	7	7
G5(Lop + Test Low Dosage)	Mean	0.36	1.06	180	21.8	7.6	13.8	0.03
	S.D	0.02	0.17	24	2.4	0.2	1.7	0.00
	N	7	7	7	7	7	7	7
G6(Lop + Test High Dosage)	Mean	0.40	1.22	170	20.6	7.5	13.8	0.03
	S.D	0.04	0.29	31	2.2	0.3	2.1	0.01
	N	7	7	7	7	7	7	7

S.D: Standard deviation, N:Number of animals, Ns: Normal Saline, LS: Loperamide(Lop), LD: Lop+Ducolax-S, LF: Lop + Fructooligosaccharide, LTL: Lop+TL(TEst Low), LTH: Lop+TH(Test High)

3. 부검 소견

투여 15 일에 임상병리 검사를 위해 채혈을 실시한 모든 개체는 부검을 위하여 복대동맥 및 후대정맥을 절단하여 방혈 / 치사 시켰다[10]. 이후 부검소견을 확인하기 위하여 외관, 두부, 흉강 및 복강 등 전신의 모든 장기 및 조직을 육안으로 관찰하였다. 그림 1에서 보는바와 같이 대조군을 포함한 모든 투여군에서 특이적인 소견이 관찰되지 않았다(Figure 1).

질 고용량 투여군)에서 변비가 개선된 형태의 변(정상변 또는 작은변)이 관찰되어 각각 약 71% 및 86%의 변비 개선 효과가 있는 것으로 사료되었다. 일반적으로 변비와 관련된 변은 길이가 긴 변의 형태였으나, 시험물질 투여군에서는 작은변 형태가 관찰되어 시험물질 투여에 의하여 개선 효과가 있
는 것으로 사료 되었다.

그림 1. 부검소견
Figure 1. Fecal surface in the colon.

Ns: Normal Saline, LS: Loperamide(Lop), LD: Lop+Ducolax-S, LF: Lop + Fructooligosaccharide, LTL: Lop+TL(TEst Low), LTH: Lop+TH(Test High)

4. 장내 변 개수 및 형태

표 5에서 보는바와 같이 장내 변 개수 측정 결과, G2(Lop+대조군)군에서 G1(NS+S 정상군)군 대비 유의성 있는 증가가 관찰되어 Loperamide(Lop) 투여에 의한 변비 모델이 유도된 것으로 사료되었으며, G3(Lop+Dulcolax-S), G4(Lop+Fructooligo saccharide), G5(Lop+시험물질 저용량 투여군) 및 G6(Lop+시험물질 고용량 투여군)군에서 G2(Lop+ 대조군)군과 비교하여 장내 변 개수가 각각 31, 21, 28 및 31%의 감소가 관찰되어 변비 개선 효과가 있는 것으로 사료되었다. 장내 변 형태 관찰 결과, G2(Lop+대조군)군에서 G1(NS+S 정상군)군과 비교하여 변비와 관련된 형태의 변(길이가 긴 변)이 약 86%가 관찰되어 Loperamide(Lop) 투여에 의한 변비 모델이 유도된 것으로 사료되었으며, G5(Lop +시험물질 저용량 투여군) 및 G6(Lop+시험물

그러나, 양성대조군인 Dulcolax-S(DS) 투여군에서는 길이가 긴 변이 약 86%가 관찰되어 시험물질 투여군과의 차이를 보였다(Table 5).

표 5. 장내 변 개수
Table 5. Fecal pellet number in the colon.

Group		Fecal pellet number
G1(NS + S Normal group)	Mean S.D N	1.4 0.5 7
G2(Lop + Control group)	Mean S.D N	4.1* 1.1 7
G3(Lop + Positive control group)	Mean S.D N	2.9* 0.7 7
G4(Lop + FOS group)	Mean S.D N	3.3* 1.0 7
G5(Lop + Test Low Dosage)	Mean S.D N	3.0* 0.8 7
G6(Lop + Test High Dosage)	Mean S.D N	2.9* 0.7 7

5. 점액질 두께

표 6에서 보는바와 같이 결장 검체 내 점액질의 표준화된 두께를 측정하였을 때, 점액질의 표준화된 두께는 G1 (정상군), G3 (Lop+양성대조군), G6 (Lop+시험물질 고용량 투여군), G5 (Lop+ 시험물질 저용량 투여군), G4 (Lop+FOS 투여군), G2 (Lop+대조군)순으로 높게 확인 되었으며, G3(Lop+ Dulcolax-S) 및 G6(Lop+ 시험물질 고용량 투여군)군에서 G2(Lop+대조군)군과 비교하여 점액질 두께가 각각 약 10.5 및 5.5%가 높게 관찰되어 변비 개선 효과가 있는 것으로 사료되었다 (Table 6).

표 6. 점액질의 두께
Table 6. Thickness of Standardized Colon mucus.

Group	Average Thickness(㎛)					
	G1	G2	G3	G4	G5	G6
Mean	2.121	1.669	1.866	1.690	1.717	1.765
S.D	0.188	0.181	0.399	0.067	0.135	0.277
N	7	7	7	7	7	7

S.D: Standard deviation, N: Number of animals.

7. 분비세포 활성도

그림 2에서 살펴보면 모든 동물의 결장 내 세포 관찰 시 조직병리학적 이상소견은 관찰되지 않았다. 결장 검체 내 Mucin 2 양성 면적 측정을 통해 분비세포의 활성도를 평가하였을 때, 분비세포의 활성도는 G1 (정상군), G6 (Lop+시험물질 고용량 투여군), G3 (Lop+양성대조군), G5 (Lop+시험물질 저용량 투여군), G2 (Lop+대조군), G4 (Lop +FOS 투여군) 순으로 높게 나타났다(Figure 2).

V. 토론 및 결론

본 실험을 종합적으로 살펴보면 실험 조건하에서 Loperamide로 유도한 변비 Sprague-Dawley 랫드 모델에서 프락토올리고당 및 과채류복합 추출물을 2주간 경구투여한 결과, G3(Lop+Dulcolax -S) 및 G6(Lop+시험물질 고용량 투여군)군의 투여 14 일 변 수분함량이 G2(Lop+대조군)군과 비교하여 각각 약 10% 및 22%의 증가가 관찰되었으며, G5(Lop+시험물질 저용량 투여군) 및 G6(Lop+시험물질 고용량 투여군)에서 변비가 개선된 형태의 변(정상변 또는 작은 변)이 각각 5 례 및 6 례가 관찰되어 각각 약 71% 및 86%가 관찰되어 변비 개선 효과가 있는 것으로 사료되었다. 그러나 양성대조군인 Dulcolax-S(DS) 투여군에서는 길이가 긴 변이 약 86%가 관찰되어 시험물질 투여군과의 차이를 보였다.

생화학적 검사 결과, G2(Lop+대조군), G4(Lop+ Fructooligosaccharide) 및 G6(Lop+시험물질 고용량 투여군)군에서 담즙산(TBA)이 G1(NS+S 정상군)군과 비교하여 증가 경향이 관찰되어 Loperamide (Lop) 투여에 의한 변비 모델이 유도된 것으로 사료되었으며, G3(Lop+Dulcolax-S) 및 G5(Lop+시험물질 저용량 투여군)군에서 G2(Lop+대조군)군과 비교하여 감소 경향이 관찰되었다. 일반적으로 변비와 관련된 변은 길이가 긴 변의 형태였으나, 시험물질 투여군에서는 작은변 형태가 관찰되어 시험물질 투여에 의하여 개선 효과가 있는 것으로 사료되었다. 그러나, 양성대조군인 Loperamide(Lop) 투여군에서는 길이가 긴 변이 약 86%가 관찰되어 시험물질 투여군과의 차이를 보였다. 결장 검체 내 점액질의 표준화된 두께를 측정한 결과, 점액질

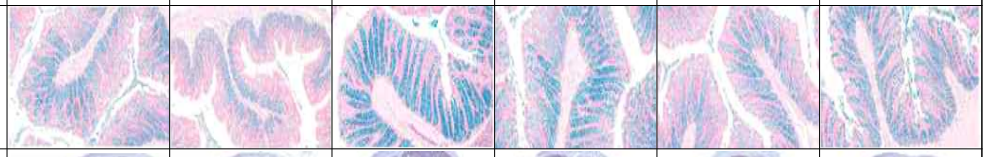
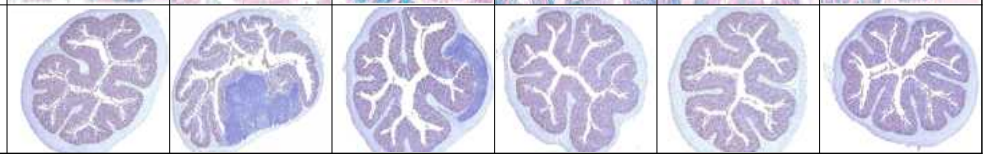
Colon Staining	Sample Group					
	G1	G2	G3	G4	G5	G6
Alcian blue 100 x						
Mucin 2 20 x						

그림 2. 분비세포 활성도
Figure 2. Histopathological Intestinal activity.

의 표준화된 두께는 G1(정상군), G3(Lop+Dulcolax-S), G6(Lop+시험물질 고용량 투여군), G5(Lop+시험물질 저용량 투여군), G4(Lop + Fructooligosaccharide), G2(Lop+대조군) 순으로 높게 확인되었으며, G3(Lop+Dulcolax-S) 및 G6(Lop+시험물질 고용량투여군)군에서 G2(Lop+대조군)군과 비교하여 점액질 두께가 각각 약 10.5 및 5.5 %가 높게 관찰되어 변비 개선 효과가 있는 것으로 사료되었다. 결장 검체 내 Mucin 2 양성 면적 측정을 통해 분비세포의 활성도를 평가한 결과, 분비세포의 활성도는 G1(정상군), G6(Lop+시험물질 고용량 투여군), G3(Lop+Dulcolax-S), G5(Lop+시험물질 저용량 투여군), G2(Lop+대조군), G4(Lop+ Fructooligosaccharide) 순으로 높게 확인되었다. 따라서, Loperamide로 유도한 변비 Sprague-Dawley 랫드 모델에서 시험물질 프락토올리고당 및 과채류복합 추출물을 투여한 결과, 변비 개선 효과가 있는 것으로 사료된다.

References

[1]H. K. Kim, “Evaluation of intestinal immunity activity by steam-heat treatment and fermentation of lactic acid bacteria of fruit and vegetable complex extracts containing red ginseng,” *The Journal of the Convergence on Culture Technology*, Vol. 8(6), pp. 935-941, 2022. http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2022.8.6.935.

[2]S. Muller-Lissner, “Classification, pharmacology, and side effects of common laxatives,” *Ital. J. Gastroenterol Hepatol,* Vol. 31, pp. 234-237, 1999.

[3]S. M. Mo, Y. S. Lee, J. O. Koo, S. M. Shon, J. S. Seo, E. Y. Yoon, S. K. Lee and W. K. Kim, “Dietetic Therapy,” *Kyomunsa*, Paju, Korea. 2002.

[4]I. S. Kim, E. J. Joo, K. J. Lee and E. S. Park, “Clinical Nutrition and Dietetic Therapy,” *Hyoil Cultural Company*, Seoul, Korea. 2003

[5]I. Takio et al., “Effects of probiotics on loperamide induced constipation in rats,” *Scientific Reports,* 11:24098, 2021.

[6]K. B. Gayathri et al., “Ebselen prevents cigarette smoke-induced gastrointestinal dysfunction in mice,“ *Clinical Science*, Vol. 134(22), pp. 2943-2957, 2020. http://dx.doi.org/10.1042/cs.20200886.

[7] L. Zili et al., “Loperamide induces excessive accumulation of bile acids in the liver of mice with different diets,” *Toxicology,* Vol. 447(153278), 2022. http://dx.doi. org/10.1016/j.tox.2022.1532781.Epub.2022 Aug.

[8] NTP(National toxicology program) Noneo- plastic lesion atlas: a guide for standardizing terminology in toxicologic pathology for rodent. https://ntp.niehs. nih.gov/.

[9] F. M. Elizabeth, “Background Lesions in Laboratory Animals,” *Elservier*, Amsterdam, 2012.

[10] A. P. Corfield, D. Carrol, N. Myerscough and C. S. Probert, “Mucins in the gastrointestinal tract in health and disease,” *Front. Biosci.* Vol. 6, pp. 1321-1327. 2001. http://dx.doi.org/10.2741/corfield.

※ 본 과제(결과물)는 2023년도 중소기업진흥원의 지원을 받아 수행된 산학연 Collabo R&D 기술개발사업화의 결과입니다.(연구과제명; 진생사포닌 대사산물과 비지터블 활성성분을 활용한 장건강 소재개발 및 상용화(사업화) S3301480). 이에 감사 드립니다.