

저항전분의 함량이 높은 옥수수 사료가 비글의 장내 미생물에 미치는 영향

조현우¹, 서강민¹, 천주란¹, 전중환¹, 김찬호¹, 임세진¹, 정소희¹, 김기현¹

¹농촌진흥청 국립축산과학원

e-mail:jhwoo3856@korea.kr

Effect of corn diet with high content of resistant starch on gut microbiome of Beagle.

Hyun-Woo Cho¹, Kangmin Seo¹, Ju Lan Chun¹,

Jung-Hwan Jeon¹, Chan Ho Kim¹, Sejin Lim¹, Sohee Jeong¹, Ki Hyun Kim¹

¹National Institute of Animal Science, Rural Development Administration

요약

저항성 전분(Resistant starch, RS)은 소화효소에 의해 소화되지 않고 장내 미생물에 의해 발효되어 단쇄 지방산과 같은 대사산물로써 전환된다. 이러한 장내 미생물에 의해 생성된 RS의 단쇄 지방산은 생체에 다양한 기작을 통해 유익한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구는 옥수수에 포함된 RS 사료 섭취가 개의 장내 미생물 환경에 어떠한 영향을 미치는 지 분석했다. 그 결과, *streptococcus* 속이 증가하였고, *bailli* 문, *oscillospirales* 강, *blautia* 속 등이 RS 섭취에 의해 유의적으로 감소했다($p < 0.05$). 변화된 taxonomy classification 분석 결과를 활용하여 장내 미생물의 기능을 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) pathway database의 level 3에서 분석한 결과, 옥수수의 RS 섭취에 의해 sulfur metabolism과 insulin signalling pathway가 증가하는 것으로 분석됐다($p < 0.01$). 그리고 KEGG database에서 level 2의 carbohydrate metabolism에서 level 3의 pentose phosphate pathway와 pentose and glucuronate interconversions가 감소하는 것으로 분석됐다($p < 0.01$). 상기의 결과를 토대로 종합해보면, 옥수수의 RS는 반려견 사료의 탄수화물 원료로써 적합할 뿐만 아니라, 장내 미생물 환경에서 생리적으로 당 대사와 지질 대사에 유익한 역할을 함으로써 궁극적으로는 항비만 효과를 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

1. 서론

전분은 에너지원으로써 영양학적 측면에서 소화가 잘되는 전분 (Rapidly digestible starch, RDS), 천천히 소화되는 전분 (Slowly digestible starch, SDS) 과 저항성 전분 (Resistant starch, RS)로 분류 할 수 있다[1]. 이 중 RS는 건강한 사람의 소장에서 흡수되지 않는 전분과 전분 분해물의 총합으로 정의된다[2]. RS는 소화효소에 의해 소화되지 않고 위장을 통과 하여 대장에서 장내 미생물에 의해 발효되며, butyrate와 acetate, propionate와 같은 단쇄 지방산을 생성한다. 그로 인해 대장에서의 항암작용 기능 개선 및 혈액 내 당을 낮추고 중성지방과 콜레스테롤의 양을 줄이는 등 건강 뿐 만 아니라 항비만에 유익한 측면의 보고가 되고 있다[3,4].

최근 반려동물을 키우는 인구가 급증하면서 펫코노미 (Petconomy)라는 반려동물 산업을 지칭하는 신조어가 생길 정도로 산업의 성장세가 뚜렷하다. 그리고 여러 종의 반려동물 중에서 반려견이 차지하는 비율이 가장 높으며, 반려인의

인구가 급속도로 증가하는 추세이다. 이로 인해 과학적으로 검증된 체계적인 관리 시스템 뿐만 아니라, 반려견이 섭취하는 사료에 대한 질적 성장이 필요하다. 따라서 본 연구에서는 RS의 함량이 높은 옥수수 사료를 비글 성견에게 16주간 급여 한 후, 장내 미생물의 변화를 확인하고 기능을 예측하여 사료 원료로써 적합한지 확인하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시동물 및 실험 설계

본 연구를 위한 공시동물은 10마리의 비글(2.9±0.05년)로 농촌진흥청 국립축산과학원에서 온·습도가 일정하게 유지되는 동일한 조건에서 사육되었고, 실험 개시 전에 모든 개체들은 동일한 사료를 섭취했다. 대조구인 쌀을 기반으로 한 사료 (n=5)와 실험구인 RS 함량이 높은 옥수수 사료를 기반으로 한 사료 (n=5)는 화학적 성분과 열량이 같도록 직접 제조했고, 사료의 급여량은 AAFCO (The association of american feed control officials)기준, 132 X 대사 체중으로 개체별 대사

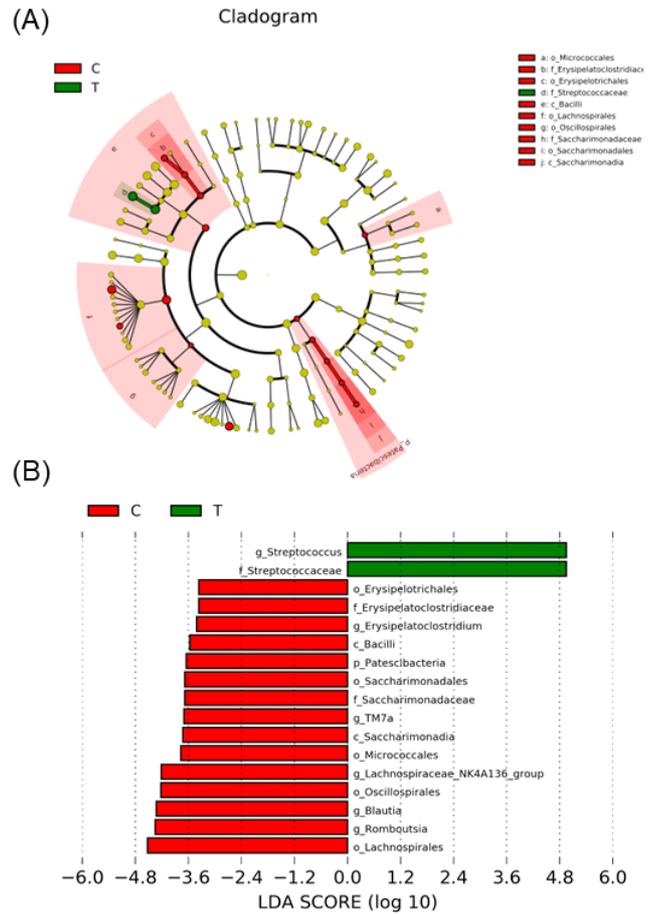
에너지 요구량이 동일하게 16주간 개체별 맞춤 급여했다. 각 사료의 RS 함량은 대조구인 쌀을 기반으로 한 사료는 1.09%, 실험구인 옥수수를 기반으로 한 사료는 3.12%였고, 모든 개체들은 자유음수 했다. 이후, 장내 미생물 분석을 위해 시험사료를 16주간 급여하고 동일한 시기에 분변 샘플을 채취했다.

2.2 마이크로바이옴 분석

분변 샘플의 DNA는 NucleoSpin DNA Stool Kit (Macherey-Nagel, Germany)를 사용하여 추출했고, illumina MiSeq (2 x 300, paired-end sequencing)로 16s rDNA의 V3와 V4 영역에서 염기서열을 분석했다. 생성된 fastq파일은 QIIME2 (Quantitative insights into microbial ecology, version 2021.04)를 사용하여 demultiplexing하고 quality score는 20으로 cut-off 했다. Demultiplexing된 read의 clustering을 위해 DADA2 (Divisive amplicon denoising algorithm, 2)로 primer와 adapter를 trimming 후, filter, denoising, merging 및 chimera를 제거한 ASVs (amplicon sequence variance)를 생성했다. Reference data 중, silva 138 SSURef NR99의 full-length를 활용하여 Naive-bayes로 taxonomy classification 및 LEfSe (Linear discriminant analysis effect size)분석을 실시했다. 그리고 장내 미생물군의 환경 변화에 의한 기능적인 변화를 예측하기 위해 PICRUSt (Phylogenetic investigation of communities by reconstruction of unobserved states)분석을 사용했고, STAMP (Statistical analysis of metagenomic profiles)를 활용하여 시각화 및 통계분석을 통해 $p < 0.05$ 를 통계적 유의성으로 인정했다.

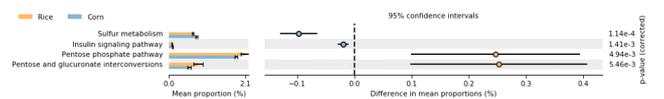
3. 결과 및 고찰

반려견의 장내 미생물에서 RS 섭취에 의한 변화를 확인하기 위해, 16주간 급여 후의 분변 샘플의 16s rDNA를 활용하여 염기서열 분석에 사용된 primer를 naive-bayes로 reference sequence에 pretraining 후, taxonomy classification을 실시하였다(그림1).



[그림 1] 저항전분의 함량 차이에 의한 장내미생물의 분기도 및 LEfSe 분석. (A) 분기도 분석. (B) LEfSe 분석. C: Rice diet, T: Corn diet. Taxonomy level은 genus 까지 분석. $p < 0.05$.

그 결과, RS 섭취에 의해 *streptococcaceae* 과와 하위 속인 *streptococcus*의 장내 미생물의 풍부도가 증가했다($p < 0.01$). 그리고 *bacilli* 문, *oscillospirales* 강과 *blautia* 속의 풍부도가 각각 감소했다($p < 0.05$). 상기의 결과를 토대로 다양하게 변화된 장내 미생물의 풍부도가 반려견에서 생리적으로 어떻게 변했는지 확인하기 위해 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes) pathway database를 사용하여 PICRUSt로 분석했다(그림 2).



[그림 2] PICRUSt로 KEGG pathway를 활용한 장내미생물 군집 변화에 의한 기능 예측 분석. Rice: Rice diet, Corn: Corn diet, $p < 0.001$.

RS 섭취에 의해서 KEGG pathway 중, level 3의 sulfur metabolism ($p < 0.001$)과 insulin signaling pathway ($p < 0.01$)가 각각 증가하였다. 그리고 pentose phosphate pathway와 pentose and glucuronate interconversions가 각각 감소했다

($p < 0.01$). 황은 생리적으로 중요한 아미노산인 cysteine과 methionine이나 항산화 기능을 갖는 glutathione과 같은 물질의 구성원소이며, sulfur metabolism은 생체의 주요 대사과정이다. Sulphate reduction은 혐기성 미생물의 에너지를 얻기 위해 주로 대사되며, 동화와 이화과정 모두 ATP에 의존하는 것으로 잘 알려져 있다. 동화과정에서 sulphate reduction은 cysteine 또는 homocysteine을 최종 산물로 생성하고 이러한 cysteine은 항산화능력이 있으며, 생체의 대사 작용에서 중요한 역할을 한다. 그리고 insulin은 insulin receptor에 결합하여 insulin receptor substrate의 인산화를 통해 신호를 전달하며, 생체에서 당 대사 뿐만 아니라 단백질 합성, 세포의 증식 및 분화 등의 필수적인 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있다. 추가적인 연구가 필요하지만, 상기의 결과를 토대로 RS 섭취에 의해 반려건의 장내 미생물에서 탄수화물 대사의 감소와 sulfur metabolism과 insulin signaling pathway 기능이 증가함으로써, 에너지 대사 뿐만 아니라 당 대사 및 지방 대사를 조절함으로써 항비만 효과가 있을 것으로 생각된다. 그리고 본 연구를 위해 탄수화물 원료로 사용된 RS는 반려건의 사료로써 가치가 있고 적합한 것으로 생각된다.

참고문헌

- [1] Englyst Hans N., Geoffery J. Hudson, "The classification and measurement of dietary carbohydrates", Food chemistry, 57.1, 15-21, 1996.
- [2] Asp, N. G., "Resistant starch. Proceedings of the second plenary meeting of EURESTA: European FLAIR concerted action no.11 on physiological implications of the consumption of resistant starch in men", European Journal of Clinical Nutrition, 46, S1, 1992.
- [3] de Deckere E. A. M., Kloots W. J., van Amelsvoort J. M., "Resistant starch decreases serum total cholesterol and triglycerol concentrations in rat". Journal of nutrition, 123, 2142-2151, 1993.
- [4] Topping D. L., Clifton P. M., "Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides", Physiological reviews, 81, 1031.-1064, 2001.