

기증, 수혜 모유 질 관리 지표 대사체 분석을 통한 정도관리

강남미*

*건국대학교 글로벌캠퍼스 의료생명대학 간호학과
e-mail:nmkang03@kku.ac.kr

Quality control through metabolite analysis of donor and recipient human milk quality control indicators

Nam Mi Kang*

*Dept. of Nursing, Konkuk University, Glocal Campus

요약

본 연구에서는 임신부와 영아건강증진을 위한 기증 모유와 분유의 비표적 대사체 분석을 통해 대사체를 프로파일링 하고, 각 군 간에 공통적으로 발견되는 대사체와 차별적으로 동정된 대사체를 분석하여 생물학적 의미를 질 정도관리를 위해 파악분석하였다. 본 연구 분석 결과 모유군에서만 차별적으로 동정된 hormone인 β -Estradiol, Cortisone은 아기의 면역 조절과 스트레스관리에 도움을 줄 수 있다. β -Estradiol은 생식기와 뼈 건강 등 생리학적 기능에 관여하므로 아기의 발달과 성장에 영향을 미칠 수 있다. Cortisone 및 Cortisol은 스트레스 관리 및 대사 조절에 관련된 hormone으로 아기가 스트레스 상황에 효과적으로 대응하고 안정감과 편안함을 촉진할 수 있다. 또한 면역 시스템을 강화하여 아기가 감염 및 질병에 대한 저항력을 향상시킬 수 있다. 또한 Hormone을 제외한 모유군에서 차별적으로 동정된 대사물 중 L-Kynurenine, N-Acetylneuraminic acid, Inosine 등도 면역 조절에 기여하므로 모유가 분유보다 면역 시스템을 지원하고 강화하는데 도움을 줄 것으로 판단된다. 본 연구에서 확인된 모유군에서 차별적으로 식별된 대사물은 스트레스와 염증 관리, 면역 강화와 감염 예방, 에너지 및 성장지원 등의 정도관리 효능이 있을 것으로 사료된다. -이 성과는 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No.2020R1A2C1005082).-

1. 서론

모유는 아기에게 필수적인 영양소뿐만 아니라 다양한 감염성 질병들로부터 보호하는 항체들, 각종 성장요소 등을 포함하고 있어 아기를 더욱 건강하게 자랄 수 있도록 도움이 되며, 산모의 측면에서도, 산후 회복을 촉진하며 심장병, 난소암, 유방암 등의 위험이 낮출 수 있다고 보고되고 있다. 따라서, 모유수유할 수 없는 아기들에게 모유 은행을 통하여 기증 모유를 수유하기를 권장하고 있고 있어, 기증모유의 질 관리 구성 요소를 이해하는 것이 요구된다. 그러나 기증, 수혜 모유 질 관리 지표 정도관리에 대한 구체적인 기전은 연구가 부족한 상황이다.

질량 분석 시스템을 이용한 대사체 분석은 한 번에 대량의 대사물을 분석할 수 있는 방법으로서, 질병 상태에 영향을 줄 수 있는 지표 혹은 바이오마커의 개발방법이다. 특히 Liquid Chromatography-Mass spectrometry (LC-MS)을 통해서 다양한 혼합물의 개별 성분을 분리하여 대사체에 대한 정성/정량 분석을 수행할 수 있다. 모유 시료의 LC-MS 분석을 통해 모유 내 대사체의 종류를 파악할 수 있으며, 이를 통해 생물학적 과정을 연구함으로써 모유 질 정도관리와 연관된 바이오마커를 발굴할 수 있다.

본 연구에서는 기증, 수혜 모유 질 관리 지표 정도관리 기초자료 제공을 위하여 모유와 분유의 비표적 대사체 분석을 통해 대사체를 프로파일링하고, 각 군 간에 공통적으로 발견되는 대사체와 차별적으로 동정된 대사체를 분석하여 생물학적 의미를 파악하였다.

2. 연구방법

2.1. 연구대상: 산모 중 미숙아를 분만한 경우만 대상으로 하여, 모유 수유를 계획한 15명과 분유 수유를 계획한 15명의 모유를 수집하였다. 다만, 연구 기간 중 건강하였던 미숙아만을 대상으로 하였으며 연구 참여 의사를 철회하는 경우를 포함, 급식, 총정맥 영양 대상자, 신생아호흡곤란 증후군, 기도삽관 이상의 호흡보조장치가 필요했던 경우, FiO₂ 0.4 이상의 산소치료가 필요했던 경우, 전신상태에 영향을 줄 수 있는 선천성 기형, 혈액학적으로 유의한 동맥관 개존증, Gr 3 이상의 뇌실 내 출혈, 급성 신부전 등을 가지는 것으로 확인된 경우는 모유 수집 대상자에서 제외하였다. 각 산모에게서 생후 7일, 14일의 2차례 모유를 10 mL씩 수집하였으며, 샘플을 받는 즉시 샘플 일련번호를 라벨링하여 용기에 담아 냉동

보관 하였다. 이후 드라이아이스를 넣은 일회용 스티로폼 아이스박스를 이용하여 검사실로 시료를 이송시켰다. LC-MS 질량분석법을 이용하여 대사체의 분포를 반정량적으로 분석한 후 bioinformatics 기법으로 대사물의 발현 차이를 비교 분석하였다. 또한, 산모와 미숙아에게서 얻을 수 있는 질환정보, 신체계측 정보, 정기 혈액 및 소변화학검사 결과 정보, 미숙아의 수유량 등의 추가적인 임상정보를 조사하여 대사체와의 연관성을 분석하였다.

2.2. 연구방법: 모유군 시료는 -80°C 에 보관하고 실험에 사용하였다. 분유는 시중에서 판매하는 분유를 모유와 동일한 방법으로 저장하여 실험에 사용하였다. 시료는 80%메탄올 추출방법을 사용하였으며, 원심 분리시에는 eppendorf사의 5415R모형을 사용하였다. 80 % 메탄올 추출법, LC-MS/MS 분석을 수행하였다. Quality control (QC) 시료는 각 시료를 혼합하여 풀링하였으며, QC 시료는 다른 분석 그룹 사이 마다 주입시켜 기기 장비의 안정성 및 반복성을 제공하는 데이터 세트를 제공하였다.

3. 연구결과

3.1. 모유군과 분유군의 정량 분석: 모유군 시료와 분유군 시료에 대한 수행한 정량분석의 결과는 Metaboanalyst(<https://www.metaboanalyst.ca/MetaboAnalyst>, ver. 5.0)을 사용하여 얻었다. 주성분 분석(Principal component analysis; PCA) 결과 분유군 시료에서는 주성분이 서로 유사성을 보이고 있으나, 모유군 시료에서는 시료별 주성분이 분산되어 나타났다. 이는 산모마다의 개별적인 특성이 모유 구성 대사물에 영향을 주었을 가능성이 있다. Volcano plot을 통하여 모유군과 분유군 간에 유의미하게 나타난 대사물을 나타내었다. Differentially Expressed Metabolites (DEMs) 개수는 총 8개로 점선 외부의 점(빨간색 및 파란색)으로 나타내었다. 점선은 $p\text{-value}=0.05$, Fold change (FC)=2의 기준을 의미하며 이 중 빨간색 점인 3개는 모유에서 상향 조절 대사물, 파란색 점 5개는 모유에서 하향 조절 대사물을 보여준다. 총 8개의 DEM 중 내인성 물질은 5개로 Ethyl palmitoleate, L-Norleucine, Palmitoyl sphingomyelin, L-Tyrosine, L(-)-Methionine이다. 생화학 pathway 데이터베이스 분석을 수행하기에 5개의 내인성 물질로는 그 수가 부족하다고 판단되어 추가적으로 모유군과 분유군의 비교 정량 분석 이외에 두 군 각각에 대한 정성분석을 수행하여 각 군에

서 차별적으로 식별된 대사물을 조사분석하였다.

3.2. 모유군과 분유군의 공통으로 동정된 대사체분석

: 정성 분석을 통하여 모유군 시료에서는 대사물 133 개, 분유군 시료에서 112 개가 동정되었으며 이중 공통으로 식별된 대사물은 81 개였다.

α -Lactose는 우유에 존재하는 주요 당이며, 모유를 통해 갓난 포유류에게 공급되는 주요 에너지원이다. 1-Stearoylglycerol은 monoacylglyceride 로 diacylglycerol lipase 또는 hormone sensitive lipase 에 의해 diacylglycerol에서 지방산이 방출되어 생화학적으로 형성된다. 생물학적 역할은 지방산 대사를 통해 에너지를 생성하는 것이다.

3.3. 모유군 정도관리 질 관리 지표 대사체 분석 :

모유군에서 특징적으로 발현된 대사물은 총 52개이고, 이 중 내인성 물질은 10개로 나타났다. 이들을 나열하자면, β -Estradiol, Cortisone, Cortisol, Urocanic acid, L-Kynurenine, N-Acetylneuraminic acid, S-Adenosylhomocysteine, Inosine, Theobromine, D-(+)-Maltose이다. Hormones 종류로는 β -Estradiol, Cortisone, Cortisol이 동정되었는데, β -Estradiol은 여성 호르몬 중 하나로, 생식기와 항산화제로 신경 보호 기능을 갖는 등 여러가지 생리학적 기능에 관여한다. 향후 모유 내 L-Kynurenine의 역할 등을 포함한 기준, 수혜 모유 질 관리 지표 대사체 분석을 통한 정도관리 연구가 요구된다.

참고문헌

- [1] Anatolitou, F. Human Milk Benefits and Breastfeeding. *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine (JPNIM)* 2012, 1 (1), 11 - 18. <https://doi.org/10.7363/010113>.
- [2] Sayres, S.; Visentin, L. Breastfeeding: Uncovering Barriers and Offering Solutions. *Current Opinion in Pediatrics* 2018, 30 (4), 591 - 596. <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000647>.
- [3] Piri-Moghadam, H.; Miller, A.; Pronger, D.; Vicente, F.; Charrow, J.; Haymond, S.; Lin, D. C. A Rapid LC-MS/MS Assay for Detection and Monitoring of Underivatized Branched-Chain Amino Acids in Maple Syrup Urine Disease. *Journal of Mass Spectrometry and Advances in the Clinical Lab* 2022, 24, 107-117. <https://doi.org/10.1016/j.jmsacl.2022.04.003>.