

산 · 학 · 연 논문

미생물 유래 항당뇨 소재 및 발효식품 개발 현황

이현진¹ · 차인태² · 서명지^{1,2*}¹인천대학교 대학원 생명과학과²인천대학교 생명공학부

Developments of Microorganisms-Derived Antidiabetic Materials and Their Fermented Foods

Hyunjin Lee¹, In-Tae Cha², and Myung-Ji Seo^{1,2*}¹Dept. of Life Sciences, Graduate School and ²Div. of Bioengineering,
Incheon National University, Incheon 406-772, Korea

서 론

현재 선진국을 비롯한 대다수의 나라는 급속한 경제 발전 및 의료 기술의 발전으로 인해 생활의 풍요로움과 기대 수명의 연장이라는 혜택을 받고 있음에도 불구하고 서구화된 식단과 고령화 문제 등으로 인해 비만, 당뇨, 고지혈증 및 치매 등의 각종 선진국형 만성질환이 급속도로 증가되고 있는 실정이다. 특히 식단의 변화로 인해 증가하고 있는 질병 중에서 당뇨는 신장질환, 백내장 등의 심각한 합병증을 유발시키기 때문에 그 심각성이 더욱 크다고 볼 수 있다.

내분비 장애의 가장 대표적인 질병 중의 하나인 당뇨(diabetes)는 혈당조절 호르몬인 인슐린(insulin)이 정상적으로 작용하지 않아서 일어나는 대사성 질병으로서 췌장에서 충분한 양의 인슐린을 생산하지 못하거나 분비된 인슐린이 체내에서 효율적으로 이용되지 못할 경우 발병하는 것으로 알려져 있다. 지금까지 다양한 유전적 인자와 환경적 요인들이 상기 당뇨 발병에 관여하는 것으로 알려져 있는데, 특히 환경적 인자인 불규칙한 영양 불균형 식단, 운동 부족, 스트레스 등이 최근 현대인들에게서 나타나는 당뇨 발생의 주된 원인으로 알려져 있다(1).

당뇨는 발병 원인에 따라 크게 두 가지 형태로 나누어 볼 수 있는데, 제1형 당뇨(type 1 diabetes)는 췌장에서부터 인슐린이 분비되지 않아서 발생하기 때문에 지속적인 인슐린의 투여가 요구되는 인슐린 의존성 당뇨병이다(2). 이러한 제1형 당뇨의 증상으로는 다뇨, 다갈, 지속적인 공복감, 체중 감소, 시력 변화, 피로 등이 있으며 이들 증상 대부분이 어린 나이에 발생하는 경우가 많기 때문에 소아 당뇨병이라고 불리기도 하고 오랜 기간 동안 지속적으로 인슐린을 투여 받아야만 하는 경우가 많다. 하지만

제1형 당뇨병의 원인은 아직까지 정확하게 알려져 있지 않기 때문에 근본적인 예방이나 치료가 현재로서는 어려운 것으로 알려져 있다. 반면 제2형 당뇨(type 2 diabetes)는 제1형 당뇨와는 달리 인체에서 인슐린이 분비되기는 하지만 그 양이 부족하거나 체내에서 부적절하게 활용되는 경우 나타나는 질병이다(2). 전 세계 당뇨의 약 90%를 차지하고 있으며 대부분 과체중 및 신체활동 부족으로 인해 발생되고 주로 40대 이후에 나타나기 때문에 성인 당뇨병이라고 알려져 있다. 또한 그 증상이 제1형 당뇨와 비슷하지만 쉽게 진단되지 않기 때문에 합병증이 발생할 확률이 높다. 이러한 제2형 당뇨병은 매년 전 세계적으로 모든 사망원인의 약 5%를 차지하고 있으며 대부분 후진국과 중진국 국가들에서 발생하고 있는 것으로 알려져 있다.

세계보건기구(WHO)와 국제당뇨병협회에 따르면 당뇨는 전 세계적으로 3억 4,700만 명 이상이 이환되어 있으며 2030년 즈음에는 그 숫자가 2배가 될 것으로 예측하고 있다(2). 또한 한국인의 경우 10명 중 1명이 당뇨를 앓고 있으며 2007년 300만 명, 2010년 351만 명, 그리고 2030년에는 약 500만 명이 당뇨병에 걸릴 것으로 추산하고 있다(3). 성별로 국내 당뇨병 유병률을 분석해보면 여자보다는 남자의 경우 그 유병률이 높으며 최근 5년간 통계에서 남자는 11.8%에서 10.1%로 낮아지는 경향을 보이는 반면 여자는 7.3%에서 8.0%로 증가하는 것으로 나타났다(그림 1). 또한 그림 2에서 보는 바와 같이 만 30세 이상 남녀의 당뇨병 비치료율을 비교해 보면 성별에 무관하게 30~39세 사이에서 가장 높은 비치료율(남자; 73.5%, 여자; 68.3%)을 보이고 있다. 이는 대부분의 30~40대 성인들이 당뇨병의 발병을 인지하지 못하거나 알면서도 방치하기 때문으로 보인다.

이처럼 당뇨는 인지하기도 힘들 뿐만 아니라 확실한 치료 역시 쉽지 않기 때문에 다양한 방법의 치료법들이

*Corresponding author

E-mail: mjseo@incheon.ac.kr, Phone: 032-835-8267

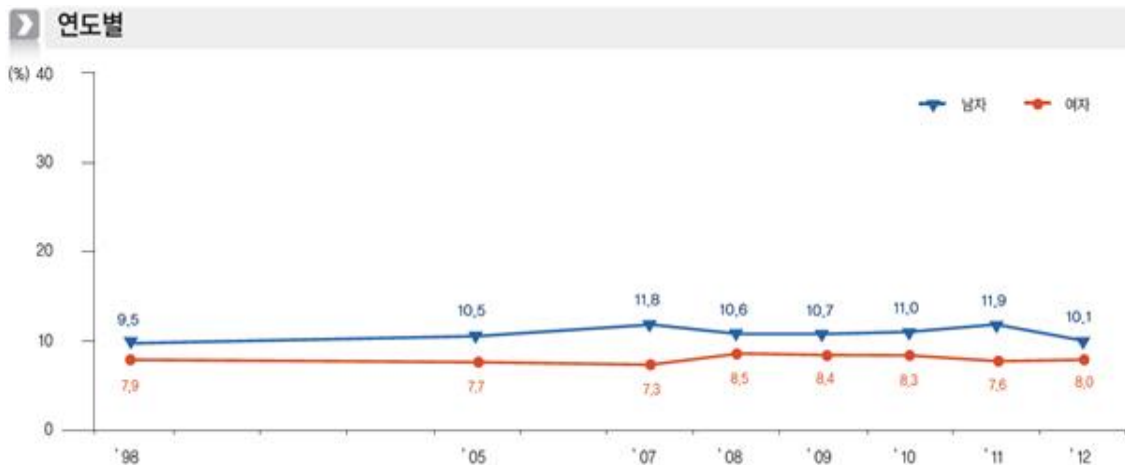


그림 1. 연도별 당뇨병 유병률

당뇨병 유병률: 만 30세 이상 중 공복혈당이 126 mg/dL 이상, 의사의 진단을 받았거나 혈당 강하제를 복용 또는 인슐린 주사를 투여 받고 있는 분율(출처: 2012 건강행태 및 만성질환 통계)

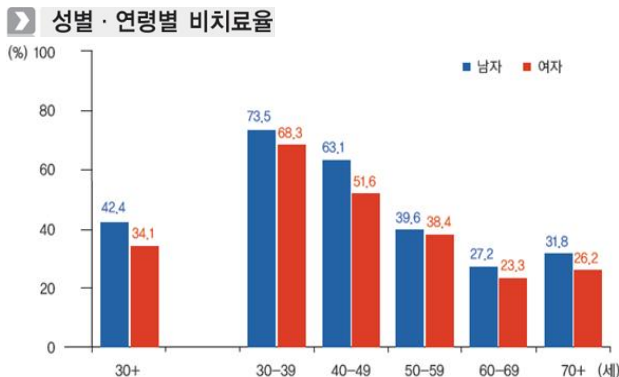


그림 2. 당뇨병 관리현황 - 성별 연령별 비치료율

비치료율: 만 30세 이상 당뇨병 유병자 중 현재 혈당강하제를 복용 또는 인슐린 주사 투여 등의 약물치료를 받고 있지 않은 분율 (출처: 2008-2012 자료통합 산출결과, 2012 건강행태 및 만성질환 통계)

계속해서 개발되고 있으며 이와 더불어 최근에는 새로운 당뇨병 치료 소재의 개발, 특히 대체 약물 치료제 및 기능성 식품의 개발을 통한 당뇨병 치료의 시도가 많은 각광을 받고 있다. 따라서 본고에서는 현재 당뇨병 치료제의 연구 동향 및 문제점, 그리고 이를 해결하기 위한 새로운 소재의 개발, 특히 발효식품 유래 미생물을 기반으로 생산되는 항당뇨 소재의 개발과 관련하여 최근의 연구 동향에 대해 기술하고자 한다.

당뇨병 치료제 개발 동향

현재 많이 활용되는 당뇨 치료법은 크게 약물치료와 식이요법으로 나눌 수 있다. 약물치료에는 주로 인슐린과 혈당강하제가 사용되고 있는데, 화학적인 방법을 이용하여 항당뇨 물질이나 치료제를 직접 합성하는 방법, 식물 및 미생물로부터 직접 추출하거나 또는 추출된 물질을

반합성하는 방법 등을 통해 혈당강하제를 개발하고 있다. 경구용 혈당강하제의 경우 그 작용기전에 따라 크게 다섯 가지로 분류가 되는데 베타세포로부터 인슐린 분비를 직접 자극하는 sulfonylurea계, 간에서 포도당 합성을 억제하는 biguanide계, 장에서 포도당 흡수를 억제하는 α -glucosidase inhibitor계, 말초의 인슐린 저항성을 개선시키는 thiazolidinedione계, 그리고 인크레틴 효과를 증강시키는 GLP-1 agonist 및 DPP IV inhibitor 등이 있다.

상기 약물치료 이외에 국내에서는 많은 환자들이 식이요법, 특히 발효식품의 식이를 통해 당뇨병을 치료하려는 시도가 많이 있으며 이와 관련된 식품의 종류만 약 80여종에 달하고 있다. 이들을 종류별로 분류하면 식물성, 동물성 식품, 건강식품, 효소식품, 한약제류 등으로 나눌 수 있는데 동물성과 식물성 식품의 경우 누에분말, 홍삼, 누에번데기, 달걀비폴, 영지버섯, 알로에, 울무, 달맞이꽃종자유, 둥글레, 결명자, 구기자, 하늘타리, 우엉, 메밀 등이 많이 사용되고 있다. 반면 효소식품의 경우 대두 발효식품인 청국장, 된장, 고추장 등과 같은 전통 발효 장류가 혈당을 낮추는데 유효한 효과가 있다고 알려져 있다(4).

당뇨병 치료제 부작용 및 개발의 한계

앞서 설명한 것처럼 지금까지 다양한 형태의 경구용 혈당강하제가 개발되어 왔음에도 불구하고 이들을 치료의 목적으로 장기 복용할 경우 저혈당 유발, 설사, 복부 팽만감, 체중 증가, 혈중 젖산 증가, 심장 및 간 독성 발생 등과 같은 다양한 부작용이 나타난다. 또한 인공적인 인슐린의 투여는 장기적으로 봤을 때 인슐린 분비 기능을 담당하는 췌장의 베타세포 파괴, 이로 인한 인슐린 저항성 유도가 발생되기 때문에 결과적으로 그 약효가 떨어지게 된다. 따라서 이러한 부작용을 줄이는 새로운 당뇨병 치료제의 개발은 시급한 연구 분야라고 볼 수 있다(3).

앞서 언급된 것처럼 지금까지 다양한 α -glucosidase inhibitor계 물질들이 당뇨병의 약물치료를 위한 물질로 개발되고 있지만 주로 화학적인 합성 또는 식물체 유래 천연물 추출을 통해 개발이 되어왔다. 하지만 화학적 합성 방법을 통한 개발은 유기용매의 독성으로 인한 간 장애와 같은 심각한 부작용을 유발할 수 있고 복잡한 합성 과정으로 인한 생산 수율이 저하될 수 있는 문제점을 안고 있다. 또한 식물체로부터 직접 해당되는 천연물을 추출할 경우 상기 식물체 안에 존재하는 다양한 유사성분으로 인해 복잡한 정제과정이 동반되어 그 수득률이 현격히 저하되는 등의 문제가 발생한다.

따라서 최근에는 미생물을 이용한 α -glucosidase inhibitor계 소재 개발이 많은 관심을 받고 있으며 그 결과 acarbose, voglibose 및 validamycin 등의 방선균 유래 α -glucosidase inhibitor 물질들이 개발되어 왔다. Acarbose와 validamycin은 *Actinoplanes* sp. 및 *Streptomyces hygroscopicus* var. *limoneus*와 같은 방선균이 직접 생산하는 α -glucosidase inhibitor 물질들이며, voglibose의 경우에는 *S. hygroscopicus* var. *limoneus*의 대사산물인 valioline을 변형시킨 약물이다(5). 그러나 이러한 방선균류는 α -glucosidase inhibitor 소재들을 생합성함에도 불구하고 상기 미생물들을 직접 식이할 수 없다는 문제점을 가지고 있으며 이로 인해 식품 산업에 직접적으로 적용하기에 적합하지 않다는 한계가 있다.

미생물 유래 항당뇨 물질 분리 연구

α -Glucosidase inhibitors 계열의 소재는 다른 계열의 항당뇨 물질들에 비해 미생물로부터 생산되어 분리되는 경우가 많은데 이처럼 미생물 유래 항당뇨 물질의 분리는 상기 소재의 생산 시간이 짧고 높은 수율로 생산 및 분리할 수 있다는 장점이 있다. 하지만 앞서 언급한 *Streptomyces* 속의 미생물의 경우에는 성장속도가 비교적 느리기 때문에 발효와 생산에 있어 경제성이 떨어지고 발효식품의 식이를 통한 당뇨 치료의 목적으로 볼 때 식품 산업에 직접 활용할 수 없다는 단점이 있다. 따라서 최근에는 제약 산업뿐만 아니라 기능성 식품 산업에 있어서도 적용이 가능한 미생물에 초점을 맞추어 항당뇨 소재 개발이 이루어지고 있으며 그 대표적인 예로 *Bacillus* 속이 있다. *Bacillus* 속 미생물은 비교적 성장속도가 빠르고 균주 개량이 쉬우며 발효 및 생산관리가 편리하기 때문에 많은 관심이 집중되고 있으며 목적하는 대사산물을 대량으로 생산하는 것이 가능하기 때문에 산업적으로 많이 적용되는 균주라고 볼 수 있다. 뿐만 아니라 *Bacillus* 속 미생물은 발효식품에 다양 존재하고 인체에 안정성이 확인되었기 때문에 식품 소재로 직접 적용할 수 있다는 큰 장점이 있다(5,6). 최근에는 토양이나 곡류 및 발효식품에서 분리한 *Bacillus* 속의 미생물이 생성하는 α -glucosidase inhibitors계 물질에 대한 연구도 활발히 진행되고 있는데

B. subtilis S10(5), *B. subtilis* B2(7), *B. subtilis* MORI 3K-85(8), *B. amyloliquefaciens* 140N(9), *B. subtilis* DSM704(10) 등이 그 대표적인 예라고 볼 수 있다.

Bacillus 유래 1-deoxynojirimycin 분리 연구

Polyhydroxylated alkaloids 계열 화합물인 1-deoxynojirimycin (DNJ)은 pyranose 고리의 산소 원자가 아민기로 치환된 glucose 유사체로서 항당뇨, 항암 및 항바이러스와 같은 중요한 생물학적 활성을 가지고 있으며 당의 가수분해에 관여하는 α -glucosidase I, II 및 mannose dehydrogenase의 활성을 억제하는 것으로 알려져 있다. 이러한 DNJ의 생물학적 유용 활성으로 인하여 현재 DNJ는 기능성 식품 및 제약 산업에 있어서 새로운 항당뇨 소재로 인식되고 있으며 새로운 DNJ 및 관련 유사체의 분리 또는 개발을 통한 신소재 발굴이 많은 관심을 받고 있다(6).

지금까지 DNJ는 L-sorbofuranose로부터의 합성 또는 촉매 반응을 통한 nojirimycin의 환원 등을 통해 생산하였으며, 이후 생물학적인 방법으로 DNJ를 생산하기 위하여 뽕나무 뿌리 및 누에의 추출물로부터 직접 분리 및 정제되는 방법이 개발 되었다(11). 그러나 추출되는 DNJ 양이 극히 소량이고 상기 식물체의 성장에 필요한 환경적 요인, 즉 재배지역 및 계절 등에 대한 직접적인 영향, 그리고 긴 재배시간 등의 이유로 DNJ의 생산 비용이 급격히 증가하는 문제가 발생하였다. 이러한 한계를 극복하고자 앞서 설명된 다양한 *Bacillus* 유래의 DNJ 생산이 많은 관심을 받게 되었고 생산성 증가를 위한 발효 최적화 등의 연구가 진행되어 왔다. 하지만 이처럼 *Bacillus* 유래 DNJ 및 관련 유도체의 생산에 관한 연구가 미생물의 직접 배양 후 분리 및 정제에 국한되어 진행이 되어 왔기 때문에 새로운 구조의 DNJ 유도체 분리가 성공적으로 이루어지지 않았으며 상기 DNJ 생합성에 직접적으로 관여하는 효소 및 유전자들의 기능 연구가 상당히 미흡한 실정이다.

이를 해결하고자 최근에 genome sequencing 기술의 발전을 기반으로 *Bacillus* 유래 DNJ 생합성 유전자의 분리 및 기능 규명에 관한 연구가 조금씩 진행되고 있는데 지금까지 알려진 DNJ 생합성에 직접적으로 관여하는 유전자로 aminotransferase(GabT1), phosphatase(Ykct1), oxidoreductase(GutB1)이 알려져 있다. 각 유전자의 개별적인 기능 규명에 관한 연구는 현재까지 미흡하지만 다양한 *Bacillus* 계열 미생물에서 상기 3가지 효소의 유전자를 분리하는 시도가 이루어지고 있으며 대표적인 예로 *B. subtilis* MORI 3K-85(8), *B. amyloliquefaciens* 140N(9), *B. amyloliquefaciens* FZB42(12), *B. atrophaeus* 1942(13) 균주를 들 수 있다(표 1). 특히 최근에는 본 연구자들은 Ykct1을 유전자 탐침으로 개발하여 PCR screening을 통해 유전자 레벨에서 DNJ 생합성 유전자

표 1. *Bacillus* 유래 DNJ 생합성 유전자 군

Microorganism	Putative DNJ biosynthetic gene cluster			Ref.
	GabT1	Ykrc1	GutB1	
<i>B. amyloliquefaciens</i> 140N	AFO38336 (422) ¹⁾	AFO38337 (316)	AFO38338 (348)	(9)
<i>B. amyloliquefaciens</i> FZB42	ABS72608 (425)	ABS72609 (316)	ABS72610 (348)	(12)
<i>B. atrophaeus</i> 1942	ADP34799 (422)	ADP34800 (316)	ADP34801 (348)	(13)

¹⁾Accession number of each DNJ biosynthetic gene GenBank (amino acid size)

균을 가지고 있는 미생물을 다양한 전통발효식품으로부터 분리하고 상기 균주의 α -glucosidase 저해 활성을 측정하여 DNJ 생합성 유전자의 분리를 통한 새로운 α -glucosidase inhibitor 생산 균주를 분리하는 연구를 수행하였다. 그 결과 *B. subtilis* 및 *B. amyloliquefaciens* 등과 같은 기존에 알려진 DNJ 생산 균주뿐만 아니라 새로운 *Bacillus* sp.를 다수 분리하는데 성공하였으며 이를 바탕으로 DNJ 생합성 유전자 및 생산 균주의 분리가 가능함을 제시하였다.

결 론

본고에서는 당뇨병의 발병 현황과 다양한 치료법, 그리고 부작용을 줄일 수 있는 안전한 당뇨병 치료제의 개발에 대하여 소개하였다. 현재 일반적으로 사용되고 있는 당뇨병 치료제는 다양한 부작용으로 인해 장기간 복용이 어렵기 때문에 부작용이 없는 새로운 항당뇨 물질의 개발이 필요하고 특히 생물학적으로 개발이 가능한 미생물 유래의 항당뇨 소재의 분리가 절실히 필요한 상황이다. 이에 부합하고자 *Bacillus* 유래 항당뇨 소재의 개발이 최근에 많은 관심을 받고 있으며 특히 DNJ 및 관련 유도체에 대한 관심이 더욱 고조되고 있는 실정이다. 또한 기존의 미생물 발효 및 정제를 통한 새로운 DNJ 유도체의 분리가 아닌 유전자 레벨에서의 DNJ 생합성 유전자 군 분리를 통한 접근방법이 더욱 수월할 수 있으며 이렇게 분리된 새로운 DNJ 생산 균주는 직접적으로 발효 식품에 적용이 가능하고 종균화를 통한 기능성 발효 식품의 개발이 가능하기 때문에 그 산업적 기대가 크다고 볼 수 있다.

참고문헌

- imFact Editorial Department. 2013. *Trends in Market of Health Functional Food and Functional Food Material*. imFact, Seoul, Korea.
- IDF. 2012. *World Diabetes Day Campaign Book*. International Diabetes Federation, Brussels, Belgium.
- Yoon SJ. 2013. Diabetes and Development Therapeutics—KDDF contribution. Korea Drug Development Fund, Seoul, Korea.
- Cho MR, Choue RW. 1998. A study of folk remedies in type II diabetic patients. *Korean J Nutr* 31: 1151-1157.
- Cho YS, Park YS, Lee JY, Kang KD, Hwang KY, Seong SI. 2008. Hypoglycemic effect of culture broth of *Bacillus subtilis* S10 producing 1-deoxynojirimycin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1401-1407.
- Cho YS. 2004. Studies on the production and application of 1-deoxynojirimycin from *Bacillus subtilis*. MS Thesis. University of Suwon, Suwon, Gyeonggi, Korea.
- Zhu YP, Yamaki K, Yoshihashi T, Ohnishi Kameyama M, Li XT, Cheng YQ, Mori Y, Li LT. 2010. Purification and identification of 1-deoxynojirimycin (DNJ) in okara fermented by *Bacillus subtilis* B2 from Chinese traditional food (Meitaoza). *J Agric Food Chem* 58: 4097-4103.
- Kang KD, Cho YS, Song JH, Park YS, Lee JY, Hwang KY, Rhee SK, Chung JH, Kwon OS, Seong SI. 2011. Identification of the genes involved in 1-deoxynojirimycin synthesis in *Bacillus subtilis* MORI 3K-85. *J Microbiol* 49: 431-440.
- Seo MJ, Nam YD, Lee SY, Park SL, Yi SH, Lim SI. 2013. Isolation of the putative biosynthetic gene cluster of 1-deoxynojirimycin by *Bacillus amyloliquefaciens* 140N, its production and application to the fermentation of soybean paste. *Biosci Biotechnol Biochem* 77: 398-401.
- Stein DC, Kopec LK, Yasbin RE, Young FE. 1984. Characterization of *Bacillus subtilis* DSM704 and its production of 1-deoxynojirimycin. *Appl Environ Microbiol* 48: 280-284.
- Kim HS, Lee JY, Hwang KY, Cho YS, Park YS, Kang KD, Seong SI. 2011. Isolation and identification of a *Bacillus* sp. producing α -glucosidase inhibitor 1-deoxynojirimycin. *Korean J Microbiol Biotechnol* 39: 49-55.
- Chen XH, Koumoutsis A, Scholz R, Eisenreich A, Schneider K, Heinemeyer I, Morgenstern B, Voss B, Hess WR, Reva O, Junge H, Voigt B, Jungblut PR, Vater J, Süßmuth R, Liesegang H, Strittmatter A, Gottschalk G, Borris R. 2007. Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth-promoting bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Nat Biotechnol* 25: 1007-1014.
- Gibbons HS, Broomall SM, McNew LA, Daligault H, Chapman C, Bruce D, Karavis M, Krepps M, McGregor PA, Hong C, Park KH, Akmal A, Feldman A, Lin JS, Chang WE, Higgs BW, Demirev P, Lindquist J, Liem A, Fochler E, Read TD, Tapia R, Johnson S, Bishop-Lilly KA, Detter C, Han C, Sozhamannan S, Rosenzweig CN, Skowronski EW. 2011. Genomic signatures of strain selection and enhancement in *Bacillus atrophaeus* var. *globigii*, a historical biowarfare stimulant. *PLoS ONE* 6: e17836.