

Microbiota and PPI

General understanding of enteric microbiota

한양대학교 의과대학 미생물학교실

김 정 목

사람의 장 표면에는 대단히 복잡한 미생물집단이 군집을 이루고 있다. 이들 세균세포의 숫자는 대장 내용물 1 그램 당 10^{11-12} 이상으로 사람세포의 10배를 넘는 것으로 추정하고 있다. 이와 같은 미생물집단을 흔히 normal flora (정상균총, 정상균무리)라고 부르고 있으나, 오늘날에는 장내미생물무리 (enteric microbiota)라는 용어로 대치하는 경향이 높다. 또한 "microbiome"이라는 용어도 동일한 의미로 쓰이고 있는데, 이것은 microbiota와 동일한 개념으로 사용될 뿐만 아니라, 한 개체 내에 존재하는 유전체와 그 유전체 산물의 총합을 의미하기도 한다. 그 이유는 분자생물학의 발달로 실제적인 균 배양 없이 유전자만으로 확인된 미생물들이 있기 때문이다. 이런 의미에서 "metagenome"이라는 용어가 한 개체의 미생물집단과 사람 DNA 복합체뿐만 아니라 RNA, 이것들에 의한 발현되는 단백질 및 대사산물의 총합이라는 개념으로 사용하고 있다. 본 강의에서는 일반적인 장내미생물무리에 대한 지식을 미생물학적 측면에서 소개하고자 한다.

1. 정상적인 장내미생물무리의 조성

장내미생물무리의 조성에 대한 연구결과의 대부분은 대변 샘플로부터 얻은 것이다. 따라서 이들 결과는 대장 말단부 내강에 존재하는 미생물무리를 반영한다고 할 수 있다. 연구방법으로는 대변 샘플로부터 증폭한 small subunit (16S) ribosomal RNA (rRNA)의 염기서열 분석법과 이를 보완하는 metagenomic sequencing을 들 수 있다. 이와 같은 방법을 이용해 얻은 결과를 종합하면, 건강한 사람의 대장 미생물무리에는 5개의 세균문 (門, phylum 혹은 division) (예, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, Verrucomicrobia)과 하나의 Archaea (Euryarchaeota)로 구성되어 있다. 이 중에서 그람음성균인 Bacteroidetes와 그람양성균인 Firmicutes가 16S rRNA의 90%를 차지하고 있다. Bacteroidetes 문에 포함되는 속 (屬, Genus)에는 *Bacteroides*, *Prevotella*, *Xylanibacter*가 있는데, 이들은 다양한 종류의 glycan 복합체를 분해할 수 있다. Firmicutes 문에 속하는 것으로 *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*와 butyrate 생성균 (*Eubacterium*, *Faecalibacterium*, *Roseburia*)이 있다. Actinobacteria 문에는 *Collinsella*, *Bifidobacterium*이 있다. Proteobacteria 문에 속하는 대표적인 균으로 장내세균과 (Enterobacteriaceae family, 科)인

*Escherichia*와 황산염 환원세균 (sulfate-reducing bacteria)인 *Desulfovibrio*가 있다. *Verrucomicrobia* 문은 최근 발견되었는데, 점액을 분해할 수 있는 *Akkermansia*가 대표적이다. 또한 Euryarchaeota에는 장내에서 메탄생성에 관여하는 일반적인 *Methanobrevibacter*가 속한다. 더 상세한 분류학상 단계로 들어가면 대변 샘플에서 배양되지 않는 것을 포함하여 수백개 이상의 종 (種, species)이 발견된다.

이와 같은 조성은 식이와 환경의 차이 혹은 항생제 복용 등과 같은 외부 요인에 의해 영향을 받을 뿐만 아니라 특정 질병에 따라 바뀌기도 한다. 이렇게 '조성이 변경되었다 (dysbiosis)'라는 것을 증명하려면, 과연 정상적인 장내미생물무리가 어떻게 구성되어 있는지를 정의 내려야 한다. 그러나 아직까지 정확한 정보를 얻고 있지는 못하다. 그렇지만 최근 몇 년간의 연구들은 적어도 이 질문에 대한 단서를 제공해 주고 있다.

2. 장내미생물무리 중의 우세종 (dominant bacterial species)

장내미생물무리 중에서의 우세종을 연구할 때, '계통분류형 (phylotype)'이라는 개념이 등장한다. 이것은 특정 유전자 지표와 유사성이 높은 DNA 염기서열을 지닌 균들을 계통유전학적 (phylogenetic)으로 분류한 생물학적 형을 의미한다. 이 용어는 16S rRNA 염기서열 분석을 통해 미생물을 계통적으로 분류하는 과정에서 사용하기 시작했다. 그런데 계통분류형에는 배양 가능한 균뿐 아니라 배양되지 않지만 16S rRNA 염기서열만으로 분류되는 균도 있다는 점을 주목해야 한다.

몇몇 공통적인 종들은 대부분의 성인 대변 샘플에서 매우 높은 숫자 (우세종)로 검출된다. 다양한 연구들을 요약하면, 상위 10개 종 중에서 *Bacteroides vulgatus*, *Eubacterium rectale*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Colinsella aerofaciens*와 *Rumminococcus bromii*는 균배양 결과와 일치하였다. 그런데 장내미생물무리의 우세종은 지역적인 차이 (geographical variation)를 보여 준다. 무엇보다 차상위 우세종 (subdominant bacterial species)들도 장내미생물무리 집단 내에 있어서 어떤 역할을 담당할 것이라는 점을 간과하지 말아야 한다.

장내미생물무리가 다양성을 나타낸다는 의미는 배양되지 않는 균도 있다는 점을 나타낸다. 그리고 발표되는 균의 분포도는 배양 유무를 떠나 분자생물학적 기법 (culture-independent molecular approach)을 이용하고 있다. 대표적인 예로 high-throughput sequencing technology를 들 수 있다. 이 기법은 계통학적 균분류 보다는 metagenomics를 통해 장내미생물무리의 유전자를 단시간 내에 분석한다. 이와 같은 연구기법을 이용해 미생물 집단 내 있는 개개의 미생물 사이에는 유전적으로 많은 차이를 보이고 있음을 알 수 있었다. 또한 사람의 장내미생물무리를 소규모로 분류할 수 있는 수준, 즉 특정 'enterotype'으로 나눌 수 있을 가능성을 확인하였다. 즉, 'enterotype'이라 함은 장내에 분포하는 미생물의 우세종에 따라 개인을 장내미생물무리에 따라 분류하는 방법이다. 예를 들어 성별, 국적, 체중, 나이 등과 무관하게 장내미생물무리 중 *Bacteriodes* spp.가 우세한 경우를 enterotype 1, *Prevotella* spp.가 우세한 경우를 enterotype 2, 그

리고 *Ruminococcus* spp.가 우세한 경우를 enterotype 3라고 분류한 것이 대표적이다. 그러나 아직까지 이 개념에 대해서는 논란이 많다는 점을 지적하고자 한다.

3. 장내미생물무리의 조성에 영향을 미치는 인자

건강한 성인의 대변에서 관찰되는 미생물무리의 조성은 오랜 기간 변화하지 않고 안정된 상태를 유지한다. 이와 같은 안정 상태를 유지하거나 변동시킬 수 있는 인자들로 우리 몸에서 찾아볼 수 있는 것들이 많다. 즉, 체내의 장관은 해부학적으로 구분한 것만큼이나 각 부위의 생리, 소화 속도, 기질 이용 능력, 숙주의 분비물, pH, 산소 포화 등에서 큰 차이를 나타낸다. 따라서 장내미생물무리의 조성은 해부학적 부위별로 집단화되어 있는 경향이 있다. 예를 들어 대장은 유속이 느리고 중성 또는 약산성 환경이기 때문에, 주로 절대무산소균 (obligate anaerobes) 집단으로 구성된 거대한 미생물무리의 군집 장소가 된다. 소장은 음식물이 머무르는 시간이 짧고 (3-5 시간), 담즙 농도가 높기 때문에 미생물들이 군집을 이루기에 좋지 않은 환경이라고 할 수 있다. 분자학적 연구 결과 소장의 미생물무리는 조건무산소성균 (facultative anaerobes) 집단이 주종을 이루고 있다. 즉, 그람양성균으로 *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Enterococcus* spp.와 그람음성균으로 Proteobacteria, *Bacteroides* spp. 등이 분포한다. 이외에도 항미생물 펩타이드 및 단백질, 장관 내로 분비되는 면역글로부린, 모체로부터 받은 선천적인 균무리 등을 들 수 있다 그렇지만 최근 심리적인 인자도 중요하게 작용한다는 연구결과 들도 발표되고 있음을 주목할 필요가 있다.

외부적인 요인으로는 식습관 (diet), 항생제, proton pump inhibitor (PPI), H2 blocker, prokinetics, laxatives, opioids, 비스테로이드성 소염제 (NSAID) 등도 거론되고 있다. 이 중에서 식습관 (diet)이 중요시되고 있다. 즉, 음식물 구성요소 중 특정성분을 변화시키면 미생물무리의 조성에 영향을 미친다. 대표적인 예로 prebiotics를 들 수 있다. Prebiotics란 소화되지 않는 음식물 구성요소로, 충분한 양을 섭취했을 때 건강에 유익한 방향으로 작용하는 균들의 성장과 활성을 선택적으로 자극하는 물질을 말한다. 이것들 중 비소화성 탄수화물에 속하는 inulin과 galacto-oligosaccharide은 소화효소에 의해 가수분해되지 않는다. 그 대신 특정 장내미생물에 의해서 분해되어 probiotics의 성장과 활성을 유도한다. 한편 probiotics란 살아있는 미생물로 적절한 양을 투여하면 건강에 유익한 방향으로 작용하는 균을 말한다. 대표적인 예로 *Lactobacillus*와 *Bifidobacterium*에 속하는 균들을 들 수 있다.

참고로 최근 96명의 성인을 대상으로 한 연구에서 2개의 enterotype이 장기적인 식습관과 연관성이 있음을 보여주고 있다. 즉, 'Prevotella 형' (enterotype 2)은 섬유질 섭취와 관련이 있었고 'Bacteroides 형' (enterotype 1)은 고단백 섭취와 관련이 높았다. 이와 같은 결과는 이론에서 머물던 enterotype이라는 용어가 식습관에 따라 여러 형으로 분류될 수 있다는 점을 시사해 주고 있다.

참고로 아프리카 어린이에서의 *Prevotella* spp. 비율 (enterotype 2)은 이탈리아 어린이보다 높았던 반면, 이탈리아 어린이는 아프리카 어린이보다 *Bacteroides* spp.와 Firmicutes의 비율 (enterotype 1)이 높았다. 식습관을 연구한 결과, 섬유질의 섭취는 이탈리아 어린이보다 아프리

카 어린이가 높았던 반면, 이탈리아 어린이는 아프리카 어린이보다 전분과 단백질의 섭취가 높게 관찰되었다. 이와 같은 결과들은 단기간의 식이 변화에 의해 장내미생물무리 구성이 변화할 수 있음과 동시에 장기간의 식습관도 중요한 인자로 작용한다는 점을 제시해 주고 있다. 따라서 일시적 또는 장기간에 걸친 장내미생물무리 구성 변화도 식습관을 바꾸면 원래 상태로 되돌아 갈 수 있을 것으로 보인다.

4. 연령에 따른 장내미생물무리의 발달

연령에 따라 장내미생물무리가 변화한다. 장내미생물무리의 조성은 대체적으로 3단계에 걸쳐 완성된다. 즉, 출생할 때 장관에 정착하는 최초의 균은 조건무산소균이다. 이렇게 정착한 세균들이 산소를 소모하기 때문에 무산소환경을 만들고, 결과적으로 약 2주 내에 절대무산소균의 정착을 도와준다. 이 단계에서 최초로 정착하는 절대무산소균으로 *Bifidobacterium* spp.와 *Bacteroides* spp.를 들 수 있다. 그런데 제왕절개로 출생한 신생아들은 초기에 외부환경에 분포하는 세균과 피부 미생물무리 (예, *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp.)에 노출되는 반면, 자연분만에 의해 출생한 신생아는 엄마의 질/대변 미생물무리에 노출된다. 따라서 출생 3일이 되면, 자연분만에 의해 출생한 신생아들은 제왕절개에 의해 태어난 신생아들보다 더 다양하고 많은 *Bifidobacterium* spp.를 갖게 된다.

유아기 (乳兒期)는 모유 혹은 분유로 양육되는 생후 약 1년간의 시기를 말하는데, 본 종설에서는 고형음식을 먹기 전까지를 대상으로 한다. 이 시기에 오로지 모유를 먹은 아기들은 분유를 먹은 아기들에 비해 장내미생물무리의 다양성은 낮지만, 그 조성은 오히려 더 안정적인 경향을 보여준다. 그리고 모유를 먹은 아기들은 *Bifidobacterium* spp. 비율이 분유를 먹은 아이들에 비해 더 높다. 그런데 장내미생물무리의 조성은 지역적인 차이를 보이기도 한다. 즉, 북부 유럽에서는 *Bifidobacterium* spp., 남부 유럽에서는 *Bacteroides* spp.와 *Lactobacillus* spp.가 우세하게 나타나고 있다. 모유에서 발견되는 특정 균주들은 이 모유를 먹은 아기의 대변 샘플에서도 검출된다. 그 이유는 이 세균들이 장간막 림프절을 통해 엄마의 장으로부터 유선 (mammary gland)으로 이동한 것으로 추정된다.

대체적으로 생후 6~7개월이 되면 젖만으로는 영양이 부족하여, 이것 이외의 음식을 찾게 된다. 고형 음식을 먹기 시작한 이후에는 장내미생물무리의 조성이 성인의 것과 유사하게 변화된다. 즉, 장내미생물무리의 다양성이 증가하고, 무산소균인 Firmicutes의 비율도 증가한다. 모유 혹은 분유로 키운 아기들의 미생물무리는 처음에는 달랐지만, 나이가 들어갈수록 점차적으로 동일한 조성을 보인다. 따라서 생후 약 18개월이면 차이를 관찰할 수 없고, 약 3살이 되면 성인의 미생물무리와 비슷한 조성을 나타낸다. 즉, 성장함에 따라 생체내의 microbiome 용량도 변화한다. 대표적인 예로 비타민 생합성과 관련한 유전자 양의 증가를 들 수 있다. 장관 내에서 초기에 정착하는 미생물무리는 면역계의 성숙 과정에도 영향을 미친다. 이런 이론들은 정상적인 장내미생물무리 조성의 변화가 습진 (eczema)과 같은 아토피성 질환과 연관될 수 있을 가능

성을 제시해 주기도 한다.

노년기가 되면 장내미생물무리의 다양성이 감소한다. 즉, Bifidobacteriaceae의 수가 감소하고, Enterobacteriaceae는 증가한다. 65세 이상의 노년기에는 청년기 (28-46세)와 비교하여 Bacteroidetes가 더 풍부해지는 반면, Firmicutes는 줄어든다. 그렇지만 식습관, 물리적 활동 또는 면역기능의 변화가 장내미생물무리의 조성변화와 관련되어 있다는 연구들이 있음에도 불구하고, 아직까지 장내미생물무리의 조성 변화와 건강 상태와의 관련성은 확실하지 않다.

5. 장내미생물의 기능 및 대사 (enteric microbial metabolism)

장내미생물무리가 우리 몸에 미치는 영향은 병원균 감염 억제 이외에도 열거하기 힘들 정도로 막대하다. 대표적인 예로 장내미생물 대사를 들 수 있다. 즉, 장내미생물의 대사 활동 중 무산소세균무리들의 대사는 서로 다른 생물체들과의 상호작용과 동시에 서로에게 영양을 공급하는 다양한 현상이라고 할 수 있다. 그렇지만 어떤 미생물이 어떤 특정한 대사물을 생성할 것인지에 대해서는 아직까지 알려진 것이 거의 없다. 또한 미생물무리 중의 특정 구성원에 의해 생성되는 대사산물에 덧붙여 장내미생물무리에 속하지 않는 세균에 의해 소모되거나 변환되는 대사산물도 있기 때문에 장내 미생물대사는 대단히 복잡한 과정이라고 할 수 있다. 그렇지만 미생물무리의 조성이 어떻게 되어 있느냐에 따라 장내 미생물대사를 결정하지만, 무엇보다 미생물무리가 이용할 수 있는 기질 (substrate)이 중요하다. 그 이유는 특정 기질로부터 생성되는 대사생성물이 장내 미생물대사와 장내 환경을 반영하기 때문이다. 또한 장내 미생물대사 활동은 인체 면역반응에도 큰 영향을 미친다. 장내 미생물대사에 대한 자세한 지식에 대해서는 2013년 대한소화기학회지 62권4호를 참고하기 바란다.

맺음글

숙주가 장내 미생물무리를 유지하는 이유는 영양소의 소화와 흡수, 병원균의 정착 방해, 정상적인 면역 반응의 유지 등을 들 수 있다. 장내미생물무리의 왜곡으로 인한 장관 질환 (예, 염증성대장염)은 연구가 많이 진행되고 있다. 이뿐만 아니라 장관 이외의 질환과의 연관성을 보고한 연구 결과들도 발표되고 있다. 본 강의에서는 항상성이 유지된 상태의 장내 미생물무리에 대한 일반적인 지식을 소개하였다. 최근 숙주 또는 특정 인자와 장내미생물무리의 상호 관계, 그리고 이와 연관된 질병에 대한 정보가 증가하고 있다. 이를 통해 특정 질병의 발병기전을 보다 정확하게 규명하게 될 것이고, 그 결과 새로운 치료법이 점차 소개될 것으로 기대한다.

참고문헌

1. 김정목. 염증성 장질환과 장내 미생물무리. 대한소화기학회지 2010;55:4-18.

2. 김정목. 염증성 장질환과 Inflammasome. 대한소화기학회지 2011;58:300-10.
3. 김정목. 장내미생물무리의 조성과대사가 건강과 질병에 미치는 영향. 대한소화기학회지 2013;62:191-205.
4. Abreu MT, Peek RM Jr. Gastrointestinal malignancy and the microbiome. Gastroenterology. 2014;146:1534-1546.
5. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. Proc Natl Acad Sci USA. 2010;107:14691-6.
6. Maslowski KM, Mackay CR. Diet, gut microbiota and immune responses. Nat Immunol. 2011;12:5-9.
7. Simrén M, Barbara G, Flint HJ, et al. Intestinal microbiota in functional bowel disorders: a Rome foundation report. Gut. 2013;62:159-76.