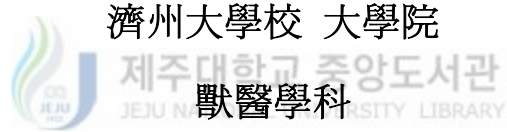


碩士學位論文

손바닥선인장 발효물이 포유자돈 장조직내
Galectin-3의 발현에 미치는 영향



李 起 賢

2005年 12月

손바닥선인장 발효물이 포유자돈 장조직내
Galectin-3의 발현에 미치는 영향

指導教授 申 台 均

李 起 賢

이 論文을 獸醫學 碩士學位 論文으로 提出함



李起賢의 獸醫學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長_____

委 員_____

委 員_____

濟州大學校 大學院

2005年 12月

Abstract

Effect of Fermented Cactus Fruit on the Expression of Galectin-3 in the Intestines of Suckling Pigs

Advised by Professor Taekyun Shin



Department of Veterinary Medicine

Graduate School, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

Abstract :

Galectin-3 is one of mammalian lectins which is expressed in a variety of cells including epithelial cells and immune cells. Increased expression of galectin-3 has been known as one of indicators for the activation of immune cells. To examine whether lactobacillus fermented cactus (*Opuntia ficus*) fruit affects the expression of galectin-3 in the intestinal epithelium,

10 suckling piglets were fed with milk supplemented with fermented cactus fruit for 1 week, while control animals (10 piglets) were fed with milk without fermented cactus.

The changes of lactic acid bacilli and fecal coliform bacteria were examined. To examine the galectin-3 expression in the intestinal tissues, Western blot and immunohistochemistry were applied. The number of lactic acid bacilli bacteria was significantly ($p < 0.05$) higher at 1 week in the experimental group supplemented with the fermented cactus, as compared to controls, but no significant differences in the number of fecal coliform bacteria were found. Western blot analysis showed that galectin-3 expression was significantly increased in the cecum of the experimental group, as compared to controls, but no significant differences in the duodenum were found.

Immunohistochemically, galectin-3 was normally detected in some epithelial cells, goblet cells, and lamina propria in the intestines of control sucking piglets. In the experimental group supplemented with fermented cactus, the expression of galectin-3 in the intestinal epithelium was more enhanced compared with those of control animals.

Taken all into considerations, this study suggests that galectin-3 is one of constitutive components of mammalian lectins in pigs, and its expression in the large intestine is

increased by the supplementation of fermented cactus, possibly implying that fermented cactus stimulates non-specific immune response in the intestine of suckling pigs.

Key words : cactus, fermentation, galectin-3, *Opuntia ficus-indica*, pig.



목 차

I. 서	론	1
II. 재료 및 방법		3
III. 결	과	9
IV. 고	찰	23
V. 결	론	26
VI. 참 고 문 헌		27



I. 서 론

손바닥 선인장 (*Opuntia ficus-indica*)은 선인장과에 속하는 열대성 식물로 우리나라의 제주도 등지에서 자생하고 있는 귀화식물이다. 그리고 특용작물로 재배되면서 다양한 형태의 기호식품으로 개발하고 있으며 성분분석 결과 식이섬유, 비타민 및 플라보노이드 성분 등이 다량 함유되어 있다 (Lee 등 1997). 그 열매와 줄기는 당뇨, 변비, 고혈압, 식욕증진, 기관지 천식, 부종 및 화상 치료에 효과가 있어 민간요법으로 전해져 내려오고 있다. 최근 손바닥선인장은 항산화능 등 다양한 생리활성능이 실험적으로 증명되고 있으며 (Shin 등 2004) 항균효과도 있는 것으로 알려져 있다 (Chung 등 2000). 또한 손바닥선인장 발효물을 이유자돈에 급여했을 때 증체 효과와 면역기능 향상 효과를 얻었다 (Park 등 2004). 이와 같은 효능의 대부분은 경구투여에 의해 이루어질 수 있으며 가장 민감하게 반응할 수 있는 곳은 소화기관 특히 소장과 대장이라고 할 수 있다. 소화기관 점막상피세포는 다양한 방법으로 보호기능을 가지며 그 중 하나는 galectin-3 와 같은 락틴을 들 수 있다.

Galectin-3는 beta-galactoside-binding protein인 galectin family 중 하나로 단핵세포, 큰포식세포 (Woo 등 1990), 그리고 상피세포 등의 다양한 세포에서 발현, 분비된다 (Maeda 등 2003). 이렇게 발현된 단백질은 세포를 활성화시키고, 단핵세포, 큰포식세포의 이동을 유도하며, 세포의 부착, 세포성장, 암세포의 전이,

apoptosis (Cooper 2002; Song 등 2002; Yang 등 1996) 및 항생작용등 (Hrdlickova-Cela 등 2001)이 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 상피세포에서 galectin-3의 발현 증가는 세포 활성화현상으로 볼 수 있으며 일부 세포형에서는 면역기능증가로 해석될 수 있다. 그러나 아직까지 손바닥선인장 발효물의 사료 첨가가 장 점막의 변화 및 장내 미생물에 미치는 영향에 대하여는 연구 된 바가 거의 없다.

따라서 본 연구에서는 제주의 특용작물인 손바닥선인장 열매를 유산균으로 발효시킨 후 포유시기의 자돈에 급여한 후 자돈의 장내 galectin-3의 변화와 세균총의 변화를 조사하여 손바닥선인장 발효물의 효능을 평가하고자 한다.



II. 재료 및 방법

1. 돼지 위장관내 galectin-3 발현 조사

정상 돼지 위·장관 내에서 galectin-3의 발현을 조사하기 위하여, 인근 도축장에서 도축된 6개월령 수돼지의 위·장관 (위 분문부, 위 몸통, 위 유문부, 십이지장, 공장, 회장, 맹장, 결장, 직장)의 각 부분을 채취하였다. 채취한 조직의 일부는 조직검사를 위해 10% 중성 포르말린에 고정하였고, 일부 조직은 Western blot 분석을 위해 -70°C 냉동고에 보관하였다.



2. 실험 재료 및 제조

이 실험에서 사용된 시료는 제주도 북제주군 한림읍 농가에서 재배한 손바닥선인장 열매를 파쇄하여 동결건조 시킨 후 분말화 하여 사용하였다. 발효유의 기질로는 서울우유 협동조합 생산품인 시판용 전지 및 탈지분유를 구입하여 기질로 사용하였고 여기에 손바닥선인장 열매 분말을 1% 첨가하여 제조하였다. 이때 고형분 함량을 14%로 조절하고, homogenizer로 균질화 시킨 후, 121°C , 15분간

고압 살균하여 40℃로 식히고 유산균을 5%(v/v)비율로 접종하여 37℃에서 발효시켰다. 이때 사용된 균주는 *Lactobacillus plantarum*(KCTC 3188), *Lactobacillus bulgaricus*(KCTC 1048)를 1:1로 혼합하여 사용하였다. 각각의 균주는 Lactobacillus MRS broth(Difco, MD, USA)에 접종하고 37℃에서 24시간 동안 3회 계대배양하여 사용하였다.

3. 실험동물 및 실험설계

손바닥선인장 발효유 투여가 포유자돈의 장조직에 미치는 영향을 평가하기 위하여 다음과 같은 방법으로 실험하였다. 먼저 포유자돈은 삼원교잡 모돈으로부터 정상 분만시켜 얻은 3.6~3.7 Kg 포유자돈 (12일령)으로 총 20두를 각각 10두씩 실험군과 대조군으로 나누어 같은 돈사 내 이웃한 돈방에 배치하였으며 모든 실험 포유자돈은 거세하였다.

1주 시험기간 동안 포유를 자유로이 섭취하도록 하였고 실험군에는 손바닥선인장 발효유를 급여하였고, 대조군은 시판제품인 대용유1호(푸리나) 대용유만 급여하였다.

4. 분변중의 생균수 검사

분변에서 확인이 용이한 대장균군과 유산균 수의 변화에 주안점을 두고 조사하였다. 분변에 함유된 대장균군과 유산균 수를 계수하고자 실험개시일, 실험 1주 후의 실험군과 대조군에서 각각 7두에서 개체 분변 1 g을 채취하여 멸균 생리 식염수 10 ml에 혼합한 다음 이 혼합액을 십진 희석하여 도말평판배양법에 따라 생균수를 측정하였다. 대장균군은 MacConkey agar (Difco, MD, USA)에서 붉은색 집락을, 유산균은 BCP plate count agar (Eiken, Tokyo, Japan)에서 노란색 집락을 계수하였다. 1회 실험시 두당 각 배지를 6장씩 사용하였고 한 희석배수의 시험관으로부터 2장의 평판배지에 도말하여 배양한 다음 그 평균계수를 산출하였다.

5. 조직표본 준비와 조직 검사

조직채취는 대조군으로 일반사료를 급여한 대조군과 선인장 발효유를 급여한 실험군 3마리씩 희생시켜 십이지장과 맹장을 채취하였으며 통상적인 방법에 따라 포르말린에 고정하였다.

파라핀블록으로 제작할 조직은 10% 중성 Formalin으로 고정하고 에탄올과 자일렌으로 탈수와 투명화 과정을 거쳐 파라핀에 포맷

한 후 5 μm 의 두께로 조직절편을 만들어 H-E염색을 실시하였다.

6. Western blot analysis

galectin-3의 양적 분석을 위해 분리된 정상 수태지의 위장관조직, 대조군과 실험군의 십이지장과 맹장조직을 leupeptin (0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$), PMSF (1 mM), aprotinin (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)등의 protein inhibitor가 포함된 40 mM Tris-HCl, pH 7.4, 120 mM NaCl, 0.1% Nonidet P-40 (polyoxyethylene [9] p-t-octyl phenol)의 buffer에서 완전히 균질화 한 후, 14,000 g로 20분간 원심분리하여 상층액을 회수하였다. 상층액으로부터 단백질을 정량한 후 12.5% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel에서 전기 영동하고, gel 상의 단백질밴드를 다시 polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane에 100V에서 2시간 동안 이동시켰다.

galectin-3를 확인하기 위해 M3/38 hybridoma 세포배양 상층액을 1차 항체로 이용하였다(Lee 등 2004). 2차 항체로는 horseradish peroxidase-conjugated goat anti-rat IgG (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)로 실온에서 60분간 반응시켰다. 또한 galectin-3면역반응을 확인한 membrane을 mouse anti-beta-actin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)으로 재면역반응 시켜 모든 샘플의 단백질이 동량으로 전기영동 되었는지 확인

하였다. 면역반응이 끝난 membrane은 Amersham ECL reagents (Amersham Life Science, Buckinghamshire, UK)로 1분간 반응시켜, X-ray 필름에 노출시키고, 그 결과를 densitometer (M GS-700 Imaging Densitometer, Bio-Rad laboratories, Hercules, CA)로 측정하였다. 그리고 Western blot의 결과는 post-hoc Student-Newman-Keuls' procedure for multiple comparisons를 이용하여 유의성을 검정하였다.

7. 면역조직화학

정상 수태지의 위·장관조직, 실험군과 대조군의 십이지장과 맹장조직은 슬라이드에 준비된 조직절편의 파라핀을 제거하고, 내재성 peroxidase를 제거하기 위해 0.3% H₂O₂가 포함된 메탄올에 20분간 반응시켰으며, 각 조직을 비특이적 반응을 방지하기 위해 10% normal goat serum으로 1시간 반응시켰다. 1차 항체로 galectin-3에 M3/38 hybridoma 세포배양 상층액을 (Lee 등 2004) 실온에서 1시간이상 반응시킨 후 biotinylated goat anti-rat IgG (Vector Laboratories, Burlingame, CA) (1:100)로 45분간 반응시켰다. 이어서 avidin-biotin peroxidase complex Elite kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA)로 실온에서 45분간 반응시켰다. 각 단계가 끝나고 PBS (pH 7.4)로 5분간 3회 충분히 세척했으며, 면역반응이 끝난 조직절편은 3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride

(DAB) substrate kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA)를 활용하여 발색시켰다. 그리고 hematoxylin 용액으로 대조염색을 한 후, 에탄올과 자일렌으로 탈수와 투명화 과정을 거쳐 봉입하여 광학현미경으로 관찰했다.



Ⅲ. 결 과

1. 돼지 위·장관 내에서 galectin-3의 Western blot 결과

돼지 위·장관의 위 분문부 (lane 1), 위 몸통 (lane 2), 위 유문부 (lane 3), 십이지장 (lane 4), 공장 (lane 5), 회장 (lane 6), 맹장 (lane 7), 결장 (lane 8), 직장조직 (lane 9)을 Western blot을 한 결과, 모든 위·장관내에서 galectin-3가 확인되었으며, 분자량은 약 29kDa이었다 (Fig. 1).

위장관 조직을 크게 위조직, 소장조직, 대장조직으로 그룹하여 galectin-3의 발현을 관찰한 결과, 대장조직 (lanes 7-9)에서 위 (lanes 1-3)와 소장조직 (lanes 4-6)보다 galectin-3의 면역반응이 강하게 관찰되었다 (Fig. 1).

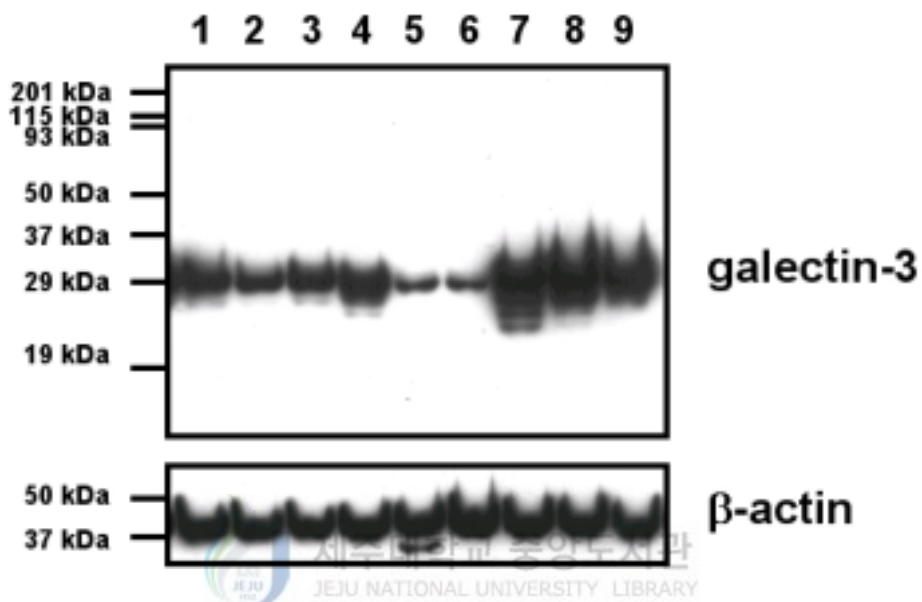


Fig. 1. Representative photomicrograph of Western blot analysis of galectin-3 (approximately 29kDa) and β -actin in the pig gastrointestinal tract. Western blot analysis of protein extracts from cardiac part of stomach (lane 1), body of stomach (lane 2), pyloric part of stomach (lane 3), duodenum (lane 4), jejunum (lane 5), ileum (lane 6), cecum (lane 7), colon (lane 8), and rectum (lane 9) using a specific anti-galectin-3 antibody was performed as described in Materials and methods.

2. 돼지 위·장관 내에서 galectin-3의 면역염색결과

돼지 위·장관에서 galectin-3의 면역조직화학 염색 반응은 주로 점막층에서 관찰되며, 일부 점막밑조직, 근육층의 세포에서 확인된다. 크게 위 유문부, 회장, 맹장조직에서 galectin-3의 반응을 관찰하면 다음과 같다.

위 유문부에서 galectin-3는 표면점액세포 (arrows), 유문샘세포 (arrowhead)에서 양성반응을 보이며, 점막고유판, 점막근육층, 근육층에서 일부 둥근 핵을 가진 세포에서도 양성반응을 보였다 (Fig. 2A). 공장에서 galectin-3는 장샘 (arrow)의 점막상피와 술잔세포에서 양성반응을 보이며, 점막고유판, 점막근육층, 근육층에서 일부 둥근 핵을 가진 세포에서 양성반응을 보였다 (Fig. 2B). 맹장에서 galectin-3는 장샘 (arrow)의 점막상피와 술잔세포에서 양성반응을 보이며, 위장, 소장 조직보다 강한 양성반응을 보였다. 또한, 점막고유판, 점막근육층, 근육층에서 일부 둥근 핵을 가진 세포에서 양성반응을 보였다 (Fig. 2C).

이상의 염색반응을 살펴볼 때 galectin-3는 주로 위장관내 점막상피에서 발현하는 것을 알 수 있으며, 하부 장조직으로 갈 수록 증가하는 것을 볼 수 있었다.

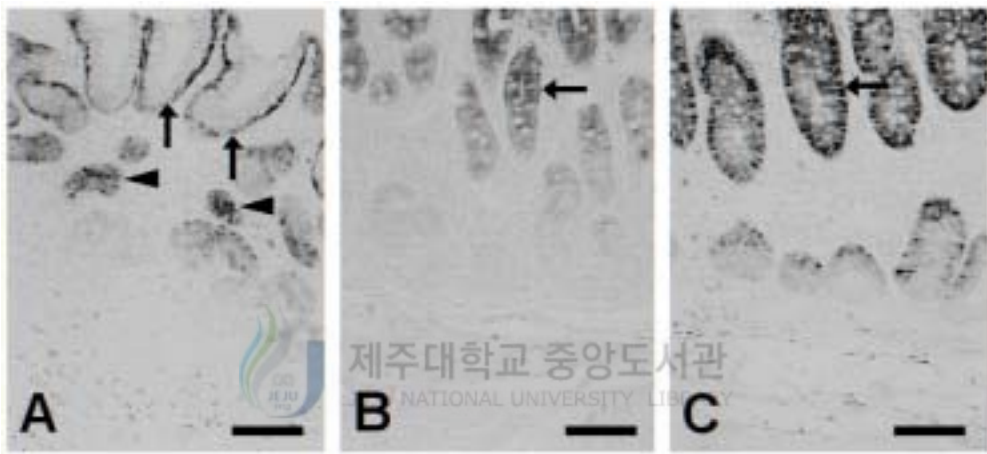


Fig. 2. Immunohistochemical localization of galectin-3 in the pig pyloric part of stomach (A), ileum (B), cecum (C), and colon (D). A-D: Counterstained with hematoxylin. Scale bars= 100 μ m.

3. 분변중의 생균수 변화 (손바닥선인장 발효물 투여 실험)

시험기간 동안 분변을 채취하여 유산균의 생균수를 측정한 결과, 투여 1주 후 대조군에서 $7.95 \pm 0.77 \log_{10}$ CFU/ml가 나타났고 실험군에서 $8.67 \pm 0.06 \log_{10}$ CFU/ml를 나타내어 유산균의 생균수는 손바닥선인장 열매 발효유 투여에 의해 대조군에 비해 유의성 있는 증가 ($p < 0.05$)가 나타났다 (Fig. 3).

대장균군의 생균수를 측정한 결과, 투여 1주 후 대조군에서 $7.45 \pm 0.64 \log_{10}$ CFU/ml가 나타났고 실험군에서 $8.02 \pm 0.46 \log_{10}$ CFU/ml를 나타내어 대장균군의 생균수는 손바닥선인장 열매 발효 분말 투여에 의해 1주까지 대조군에 비해 유의성 있는 결과가 나타나지 않았다 (Fig. 4).

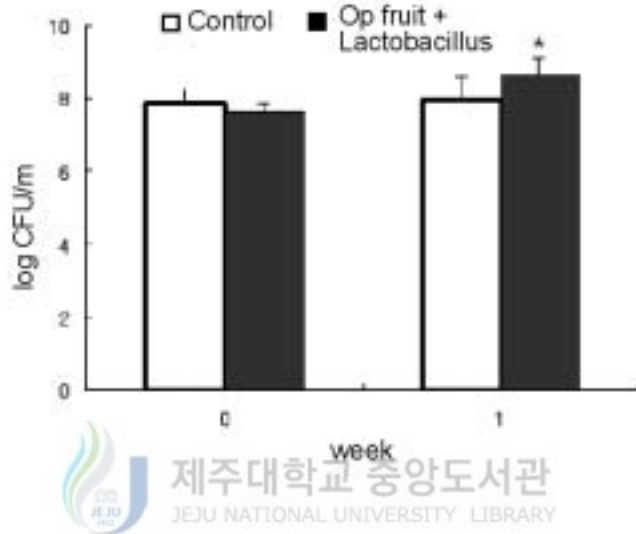


Fig. 3. Change of lactic acid bacteria populations in the feces from weaned pigs fed with fermented milk of *Opuntia ficus-infica* (Op) fruit. (*: $p < 0.05$). Values represent mean \pm S.D. (n = 7)

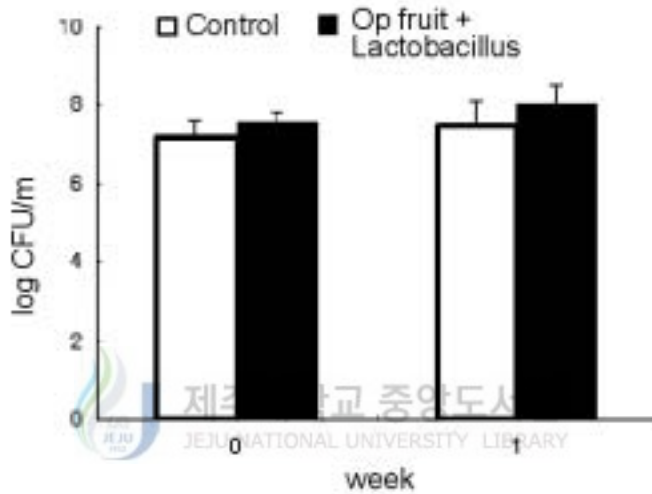


Fig. 4. Change of coliform bacteria populations in the feces from pigs fed with fermented milk of *Opuntia ficus-infica*(Op) fruit. Values represent mean \pm S.D. (n = 7)

4. 조직검사 (손바닥선인장 발효물 투여 실험)

H-E염색결과 십이지장에서 대조군 (Fig. 5A)과 실험군 (Fig. 5B)의 용모는 위축 또는 융합되는 장염의 소견이 관찰되지 않은 정상 상태였으며, 점막고유판 및 점막근육판에서 특이 소견이 관찰되지 않았다. 맹장에서는 대조군 (Fig. 5C)과 실험군 (Fig. 5D) 모두 장용모가 없고, 다수의 술잔세포가 관찰되며 모두 건강한 상태였다.



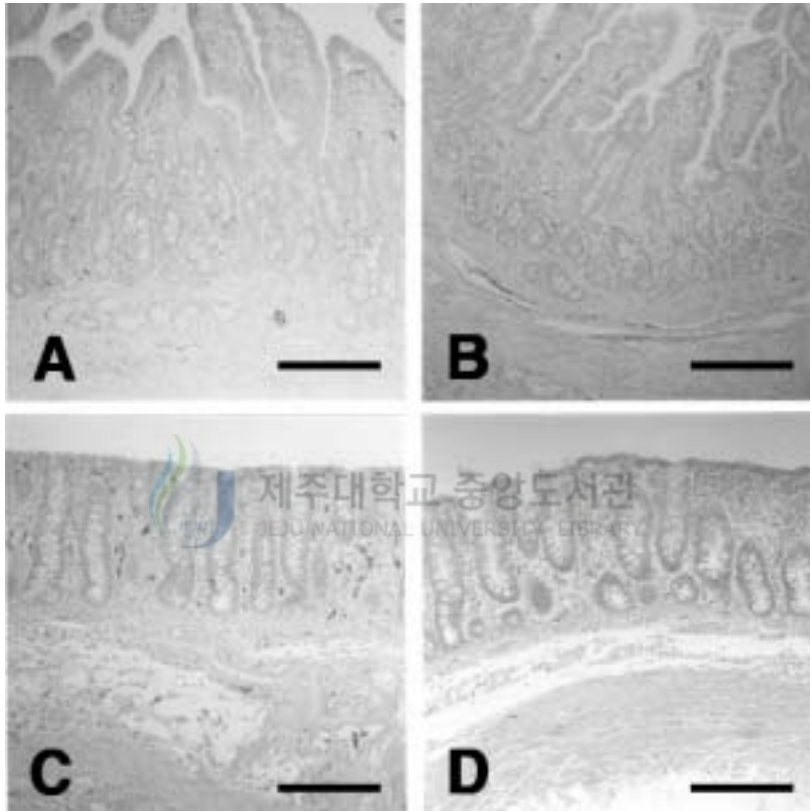


Fig. 5. Histological findings in porcine duodenum (A, B) and cecum (C, D). A and C, control group; B and D, experimental group. A-D were stained with hematoxylin and eosin. Scale bars= 200 μ m.

5. galectin-3의 Western blot 결과

(손바닥선인장 발효물 투여 실험)

십이지장에서 galectin-3는 대조군(Fig. 6A, lane 1-3)과 실험군(Fig. 6A, lane 4-6)에서 관찰되었으며, 그 분자량은 약 29kDa였다. galectin-3의 발현은 대조군 (Density OD/mm²/beta-actin value: mean±SE, 0.5931±0.0492, Fig. 6C)보다 실험군 (0.6332±0.0196, Fig. 6C)이 다소 강하게 발현하였지만 유의성은 없었다.

맹장에서 galectin-3는 대조군 (Fig. 6B, lane 1-3)과 실험군(Fig. 6B, lane 4-6)에서 관찰되었으며, 그 분자량은 약 29kDa였다. galectin-3의 발현은 대조군 (0.3136±0.0297, Fig. 6D)보다 실험군 (0.6625±0.025, Fig. 6D)이 유의성이 있게 증가하였다(p<0.05).



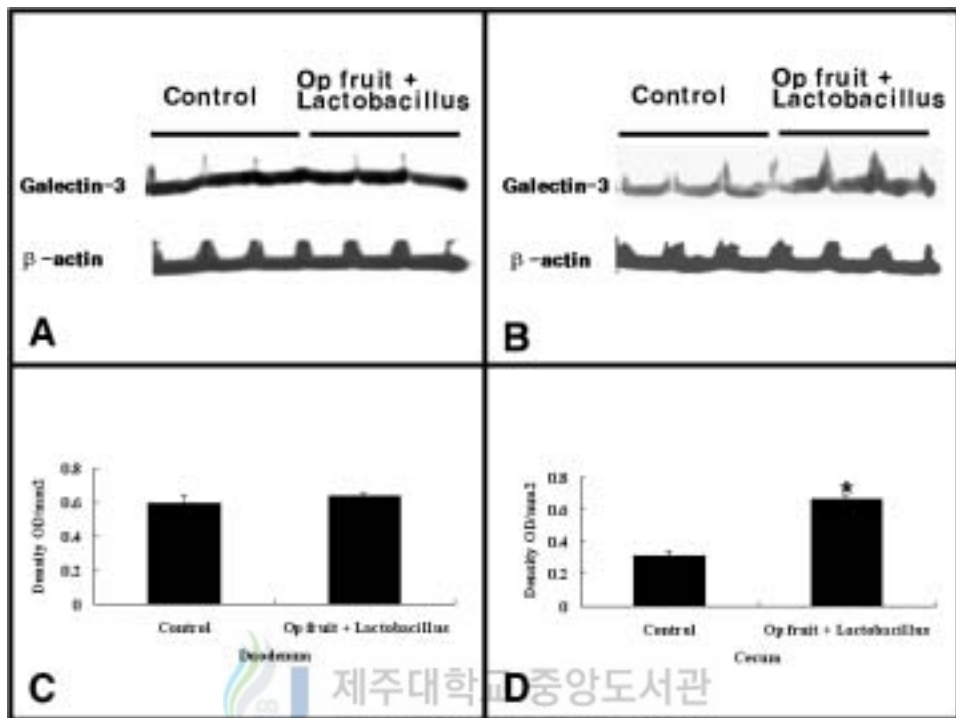


Fig. 6. Western blot analysis for expression of galectin-3 in porcine duodenum(A, C) and cecum(B, D). A, Representative photomicrograph of Western blot analysis of galectin-3(approximately 29kDa) in the duodenum (lane 1-3: control group; lane 4-6: experimental group). B, Representative photomicrograph of Western blot analysis of galectin-3 (approximately 29kDa) in the cecum (lane 1-3: control group; lane 4-6: experimental group). C, Semiquantitative representative of Western blot data for galectin-3 in the deodenum (A). D, Semiquantitative representative of Western blot data for

galectin-3 in the cecum (B). The relative expression of galectin-3 was calculated after normalization to the beta-actin bands from three different samples. Data are the mean±S.E.M. (n=3). *p<0.05, compared with the control group.



6. galectin-3의 면역조직화학 결과

십이지장에서 galectin-3의 면역조직화학 염색 반응은 대조군 (Fig. 7A)과 실험군 (Fig. 7B)에서 주로 용모상피세포, 술잔세포에서 양성반응이 관찰되며, 일부 점막고유판에서 양성반응도 관찰되었다. 면역반응은 두 그룹간 큰 차이가 없었다.

맹장에서 galectin-3의 면역조직화학 염색 반응은 대조군 (Fig. 7C)과 실험군 (Fig. 7D)에서 주로 장상피세포, 술잔세포에서 양성반응이 관찰되며, 일부 점막고유판에서 양성반응도 관찰되었다. 면역반응은 실험군이 대조군에 비해 다소 강한 면역 반응을 보였다.



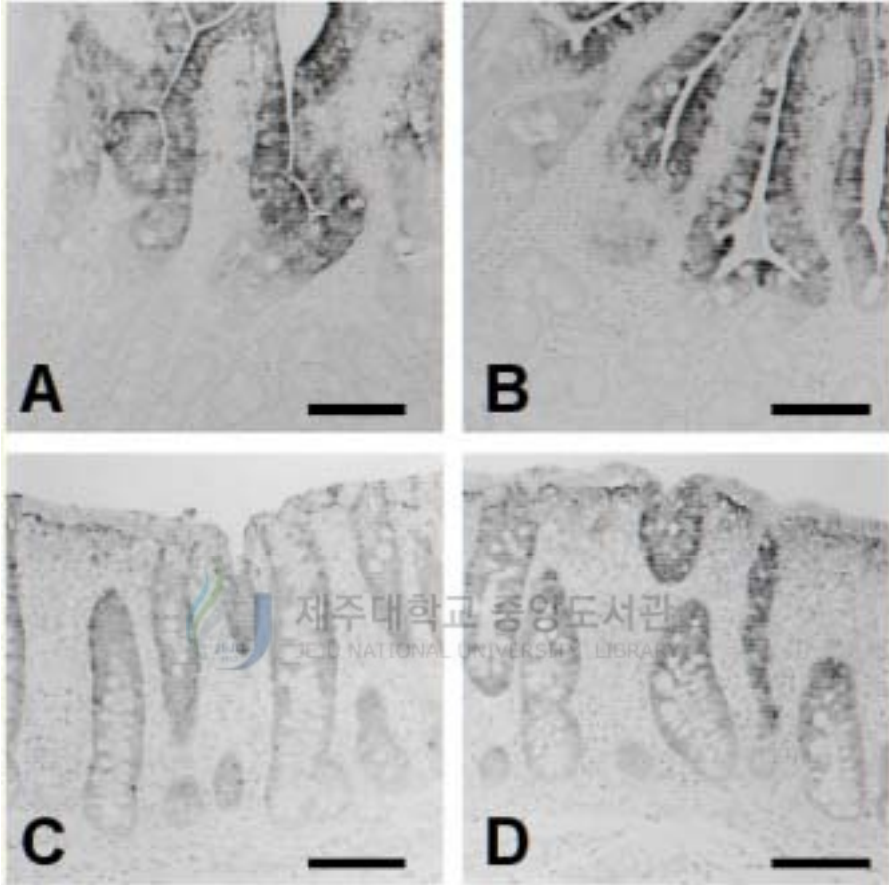


Fig. 7. Immunohistochemical localization of galectin-3 in porcine duodenum (A, B) and cecum (C, D). A and C, control group; B and D, experimental group. A-D: Counterstained with hematoxylin. Scale bars= 100 μ m.

IV. 고 찰

양돈 산업이 대규모로 산업화되고 설사 등의 질병으로 인한 경제적 손실이 늘어나고 있는 실정이다. 항생제의 개발과 화학치료제의 사용으로 생산성이 향상되는 성과를 이루었지만, 항생제의 잔류로 인한 잠재적 위해성이 제기되면서 항생제의 사용을 줄이고 이를 대체할 물질 개발에 대한 요구가 커지고 있다 (Fuller, 1989). 본 실험에서는 천연작물인 손바닥선인장 열매를 유산균으로 발효시켜 발효유로 가공한 후 자돈사료에 첨가함으로써 포유자돈의 장조직의 변화와 미생물총에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

포유자돈에 손바닥선인장 발효물을 투여한 결과 분변 내 유산균 수가 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다. 이는 발효물에 포함된 유산균의 일부가 소장 및 대장까지 이동하였음을 간접적으로 확인한 결과라 하겠다. 이와 유사한 결과는 선행 연구 논문에서도 증명된 바 있다. 즉 유산균 투여에 의해 돼지 장관의 대장균수는 상당히 감소하고 그와 반대로 lactobacillus는 증가하였다는 보고가 있다 (Smith 등 1963). 본 실험에서 분변에 대장균군의 수를 측정할 결과 손바닥선인장 발효유 투여에 의해 크게 변화되지는 않았으나 유산균 수가 대조군보다 실험군에서 높은 수치를 나타내어 대장균군의 정착을 다소 늦출 수 있을 것으로 생각된다. 이는 대장균에 보다 민감한 이유 초기 자돈에서 대장균에 의한 설사병의 예방에 도움을 줄 수도 있음을 시사하고 있다. 자돈에서 유산균 단독 투여 실험이 동시에 이루어지지 않는다면 손바닥선인장 열매의 효능

을 직접 비교하기는 곤란하다. 그러나 최근 양식넙치에 이 재료를 적용한 실험결과를 참고하여 볼 때 유산균 단독투여 첨가, 손바닥 선인장분말 단독첨가 및 유산균을 활용한 손바닥선인장 발효물을 각각 급여한 경우 손바닥선인장 발효물을 급여한 실험군에서 유의성 있는 성장효과를 증명한 바 있다. 비록 동물 종은 다르지만 유산균 단독 급여군에 비해 손바닥선인장 발효물 투여군에서는 손바닥선인장 고유의 성분이 동물체에 긍정적인 영향을 끼칠 수 있을 것으로 추정된다.

galectin-3는 beta-galactoside-binding protein인 galectin family 중 하나로 단핵세포, 큰포식세포 (Woo 등 1990), 그리고 상피세포 등의 다양한 세포에서 만들어진다고 한다 (Maeda 등 2003). 이러한 상피세포나 염증세포에서 만들어진 galectin-3는 항생작용과 염증을 조절할 수도 있다고 한다 (Hrdlickova-Cela 등 2001).

포유자돈에 손바닥선인장 발효유를 투여한 실험군과 대조군의 십이지장에서 galectin-3의 발현은 유의성 있는 차이가 인정되지 않았다. 그러나 소화물의 발효가 주로 일어나는 맹장에서는 galectin-3의 발현이 실험군에서 대조군에 비해 유의성있게 증가하였다. 폐지는 맹장내에 많은 미생물이 있고 섬유소를 분해하여 휘발성 지방산(VFA)을 생성하며, 생성된 VFA는 에너지원으로 이용된다고 한다 (Lee 등 1989). 실험군에 손바닥선인장 발효유를 투여함으로써, 발효유 성분 중 하나인 손바닥 선인장 섬유질이 맹장내 많아지고 상존하고 있는 미생물에 의해 분해되고 휘발성 지방산이 대조군보다 많이 생성될 것이다. 그리고 맹장내에서 발효유에 포함

된 유당은 유산균에 의해 발효가 되며, 이러한 유산균에 의해서 gluconic acid가 생성되며, gluconic acid는 butyrate의 생성을 촉진할 수도 있다고 한다 (Tsukahara 등 2002). 한편, galectin-3는 구강 점막세포에서 얻어진 SQCCY cell line에서 sodium butyrate를 투여했을때 발현이 증가된다 (Gillenwater 등 1998). 따라서, galectin-3가 실험군에서 유의성있게 증가한 이유는 손바닥선인장 발효유가 맹장내에서 발효하여 butyrate의 생성이 대조군보다 많아져 galectin-3의 발현이 증가한 것으로 생각된다.



V. 결 론

천연작물인 손바닥선인장 열매를 유산균으로 발효시켜 발효유로 가공한 후 자돈사료에 첨가함으로써 포유자돈의 장조직의 변화와 미생물총에 미치는 영향을 조사하였다.

포유자돈에 손바닥선인장 발효물을 투여한 결과 분변 내 유산균 수가 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다.

돼지 위장관에서 galectin-3의 발현을 조사한 결과 주로 위장관 내 점막상피에서 발현하는 것을 알 수 있으며, 대장조직에서 발현이 강하였다. 포유자돈에 손바닥선인장 발효물을 투여한 실험군과, 대조군의 십이지장에서 galectin-3의 발현은 유의성 있는 차이가 인정되지 않았다. 그러나 소화물의 발효가 주로 일어나는 맹장에서는 galectin-3의 발현이 실험군에서 대조군에 비해 유의성있게 증가하였다. 이는 손바닥선인장 발효유가 맹장내에서 발효하여 butyrate의 생성이 대조군보다 많아져 galectin-3의 발현이 증가한 것으로 생각된다.

결론적으로 볼 때 손바닥선인장 열매 발효물은 포유 자돈의 장내 미생물총에 유익한 변화를 줄 수 있으며 아울러 장 점막상피세포에서 galectin-3의 발현을 증가시킴으로써 비특이 면역기능을 향진시키는 효과가 있을 것으로 생각된다.

VI. 참 고 문 헌

- Chung, H.J.** 2000. Antioxidative and antimicrobial activities of *Opuntia ficus-indica* var. *saboten*. Kor. J. Soc. Food Sci. **16**, 62-68.
- Cooper, D.N.** 2002. Galectinomics: finding themes in complexity. Biochim. Biophys. Acta **1572**, 209-231.
- Fuller, R.** 1989. Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. **66**, 365-378.
- Gillenwater, A., Xu, X.C., Estrov, Y., Sacks, P.G., Lotan, D. and Lotan, R.** 1998. Modulation of galectin-1 content in human head and neck squamous carcinoma cells by sodium butyrate. Int. J. Cancer **75**, 217-24.
- Hrdlickova-Cela, E., Plzak, J., Smetana, K. Jr., Melkova, Z., Kaltner, H., Filipce, M., Liu, F.T. and Gabius, H.J.** 2001. Detection of galectin-3 in tear fluid at disease states and immunohistochemical and lectin histochemical analysis in human corneal and conjunctival epithelium. Br. J.

Ophthalmol. 85, 1336-1340.

Lee, N.H., Yoon, C.S., Park, B.S., Kim, H.M., Yoo, K.H.,
and Seong, K.S. 1989. Digestibility, cecal fermentation,
cellulolytic activity, and microbial changes in growing pigs
treated with either cellulolytic bacteria or its culture broth.
Kor. J. Anim. Nutr. Feed 13, 131-136.

Lee, Y.C., Hwang, K.H., Han, D.H. and Kim, S.D. 1997.
Compositions of *Opuntia ficus-indica*. Kor. J. Food Sci.
Technol. 29, 847-853.

Lee, Y.K., Kang, H.E. and Woo, H.J. 2004. Expression of
galectin-3 in rat brain. Korean J. Vet. Res. 44, 83-88.

Meda, N., Kawada, N., Seki, S., Arakawa, T., Ikeda, K.,
Iwao, H., Okuyama, H., Hirabayashi, J., Kasai, K. and
Yoshizato, K. 2003. Stimulation of proliferation of rat
hepatic stellate cells by galectin-1 and galectin-3 through
different intracellular signaling pathways. J. Biol. Chem. 278,
18938-18944.

Park, D.S., Lee, K.H., Moon, C.J., Son, W.G. and Shin, T.

2004. Supplementation with fermented *Opuntia ficus-indica* fruit powder increases growth rate of weaned pigs. Kor. J. Vet. Publ. Hlth. **28**, 23-28.

Shin, T., Wie, M.B., Lee, N.H., Lee, D.S., Son, W.G., Park, D.S., Ahn, M. and Go, G.M. 2004. Functional bioactivity of *Opuntia* species. Oriental Pharmacy and Experimental Medicine **4**, 219-226.

Smith, H.W. and Jones, J.E. 1963. Observations on the alimentary tract and its bacterial flora in healthy and diseased pigs. J. Pathol. Bacteriol. **86**, 387-412.

Song, Y.K., Billiar, T.R. and Lee, Y.J. 2002. Role of galectin-3 in breast cancer metastasis: involvement of nitric oxide. Am. J. Pathol. **160**, 1069-1075.

Tsukahara, T., Koyama, H., Okada, M. and Ushida, K. 2002. Stimulation of butyrate production by gluconic acid in batch culture of pig cecal digesta and identification of butyrate-producing bacteria. J Nutr. **132**, 2229-2234.

Woo, H.J., Shaw, L.W., Messier, J.M., and Mercurio, A.M.

1990. The major non-integrin laminin binding protein of macrophages is identical to carbohydrate binding protein 35 (Mac-2). J. Biol. Chem. **265**, 7097-7099.

Yang, R.Y., Hsu, D.K. and Liu, F.T. 1996. Expression of galectin-3 modulates T-cell growth and apoptosis. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **93**, 6737-6742.



감사의 글

2003년 대학원에 입학하여 새로운 생활에 적응하기 위해 교수님, 선배님과 후배들의 도움을 받으며 시작했었는데 벌써 졸업이라니 시간이 정말 빠름을 새삼 느낍니다.

제가 이렇게 논문을 마치고 졸업을 하고 사회생활과 모든 일에 자신감을 가지고 나아갈 수 있도록 많은 조언과 격려를 해주신 신태균 교수님께 먼저 감사드립니다. 또한 연구에 조언과 정성으로 논문을 심사하여 주신 심사위원장 손원근 교수님과 심사위원 이용덕 교수님께 감사드립니다. 그리고 대학원과정 동안 많은 관심과 가르침을 주신 수의학과 교수님들께 감사드립니다.

직장 생활과 학교생활을 잘 할 수 있게 해주시고 제가 더 발전 할수 있도록 도움과 조언을 해주시는 양용만 사장님께 감사드립니다. 실험실 생활과 학문, 삶에 있어서 많은 도움과 격려를 아끼지 않은 김승준 박사님, 김황룡 선배님, 김철 원장님, 진재광 선배님께 감사드립니다. 친 형님처럼 늘 저를 아껴주시고 많은 조언을 해주신 문창종 선배님과 강종철 선배님, 안미정 선생님께 감사드립니다. 발표준비를 같이 하면서 격려해주신 강재윤 선배님 그리고 논문을 성공적으로 마칠 수 있도록 큰 힘이 되어준 희철이와 지금은 비록 다른 길을 가고 있는 달수에게 감사의 마음을 전합니다. 그리고 실험실 생활을 잘 지도 해준 친구이자 선배인 승담, 도현에게 감사의 마음을 전합니다. 또한 대학원 생활을 즐겁고 보람되게 할 수 있도록 도와준 실험실 식구들, 광협, 경숙씨, 명승, 지윤, 지영, 태기, 지성, 정태, 찬우, 진우에게 고마움을 표하고 싶습니다.

항상 저의 든든한 후원자이시자 제 삶의 우상이신 아버님, 어머님께 정말 늘 감사하고 사랑한다는 말을 전합니다.

2006. 1.

이 기 현 올림