

บทความปริทัศน์ (Review Article)

โอลิโกแซคคาไรด์ในน้ำนมคน

ภัคสิริ สินไชยกิจ*

Oligosaccharides in human milk

Puksiri Sinchaiyakit*

School of Medical Sciences, University of Phayao, Phayao Province 56000

* Corresponding author, E-mail: puksiri1@gmail.com

Naresuan Phayao J. 2015;8(1):44–54.

บทคัดย่อ

น้ำนมคนมีปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์มากกว่าน้ำนมโคและน้ำนมแพะ โอลิโกแซคคาไรด์มีโครงสร้างหลากหลายขึ้นกับมารดาแต่ละคน แแลคโตสเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์โดยอาศัยเอ็นไซม์นานาชนิดยกตัวอย่างเช่น เอ็นไซม์ชนิดไกลโคซิลทรานสเฟอเรส ส่วนใหญ่โอลิโกแซคคาไรด์ของน้ำนมไม่สามารถย่อยได้ แต่สามารถใช้เป็นพรีไบโอติกสำหรับแบคทีเรียลำไส้ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และป้องกันจุลชีพก่อโรคนานาชนิด วิธีการใหม่สามารถผลิตสารสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์จำนวนมาก เพื่อใช้เสริมอาหารแก่นมผงสูตรดัดแปลงสำหรับเลี้ยงเด็กอ่อน ผ่านการวิจัยทั้งทางคลินิกและก่อนคลินิก อย่างไรก็ตามนมผงสูตรดัดแปลงสำหรับเลี้ยงเด็กอ่อน และน้ำนมแพะมีโอลิโกแซคคาไรด์อันมีประโยชน์ไม่มากประเภทและไม่มากคุณภาพเท่ากับน้ำนมคน

คำสำคัญ: น้ำนมคน, โอลิโกแซคคาไรด์, พรีไบโอติก, โภชนาการ

Abstract

Human milk oligosaccharides (HMO) are highly abundant in human milk comparing with cow milk and goat milk. The structures of HMO are varied among each mother. Lactose is precursor of oligosaccharide synthesis using various kinds of enzyme such as glycosyltransferase. Most human milk oligosaccharides are indigestible but they can be used as prebiotic for intestinal bacteria. HMO induces immune system and prevents various kinds of pathogens. The novel methods can produced high amount of synthetic oligosaccharides using for formula-fed milk fortification and other research including clinical and pre-clinical study. However both of the formula-fed milk or goat milk has types and quality of benefit oligosaccharides as not much as human milk.

Keywords: human milk, oligosaccharide, prebiotics, nutrition

บทนำ

น้ำนมคนประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ แลคโตส (lactose) 50 ถึง 70 กรัมต่อลิตร น้ำนมเหลืองหรือหัวน้ำนม (colostrum milk) มีโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) มากถึง 20 กรัมต่อลิตร [1] ส่วนน้ำนมขาวหรือน้ำนมระยะหลัง (mature milk) มีโอลิโกแซคคาไรด์ ประมาณ 12 ถึง 13 กรัมต่อลิตร [2,3] โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) เป็นสารอาหารมีปริมาณมากเป็นอันดับสาม [4] นอกจากนี้ยังมีไกลแคน (glycan) ขึ้นได้แก่ โมโนแซคคาไรด์ (monosaccharide) มิวซิน (mucin) ไกลโคอะมิโนไกลแคน (glycosaminoglycan) ไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ไกลโคเปปไทด์ (glycopeptide) และไกลโคลิปิด (glycolipid) [5] โอลิโกแซคคาไรด์ของน้ำนมมีมากกว่า 200 ชนิด [6-10]

น้ำนมวัวมีแลคโตส 40 กรัมต่อลิตร แต่ประกอบด้วยโอลิโกแซคคาไรด์โมเลกุลใหญ่ปริมาณน้อยมาก [1] กล่าวคือประมาณ 1 กรัมต่อลิตรและลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 48 ชั่วโมง [11] โอลิโกแซคคาไรด์ประกอบด้วยกรดไซอะลิก (sialic acid) เป็นหลัก แต่กรดไซอะลิกของน้ำนมวัวต่างจากน้ำนมคนคือ ประกอบด้วย Neu5Gc (N-glycolylneuraminic acid) แทนที่เป็น N-acetyl form [5]

โอลิโกแซคคาไรด์อันประกอบด้วยฟูโคส (fucose) หรือ ฟูโคซิล โอลิโกแซคคาไรด์ (fucosyloligosaccharides) โอลิโกแซคคาไรด์ มีบทบาทป้องกันจุลชีพเกิดโรคระบบทางเดินอาหารและลำไส้ และบทบาทป้องกันเชื้อโรค [12] เช่น *Vibrio cholerae* [13], *Streptococcus pneumonia* และ *Haemophilus influenza* [14], *Escherichia coli* [15-18], และ *Helicobacter pylori* [19] เด็กผู้กินนมผงสูตรดัดแปลงเสี่ยงต่อการเกิดโรคลำไส้อักเสบเน่าตายมากกว่าเด็กผู้กินนมมารดา 5 ถึง 10 เท่า [20] โดยเฉพาะเด็กอ่อนคลอดก่อนกำหนดน้ำหนักตัวน้อยกว่า 1,500 กรัม [21]

การศึกษาน้ำนมคน 435 ตัวอย่างจาก 10 ประเทศรายงานว่า น้ำนมทุกตัวอย่างพบโอลิโกแซค

คาไรด์ชื่อ lacto-N-neotetraose และ lacto-N-tetraose ขณะที่ทุกตัวอย่างทั้งหมดจากทุกประเทศไม่พบฟูโคซิลโอลิโกแซคคาไรด์ ตัวอย่างความแปรผันได้แก่ ตัวอย่างน้ำนมทุกตัวอย่างจากเม็กซิโกพบ 2' ฟูโคซิลแลคโตส (2'-fucosyllactose) ขณะที่ตัวอย่างจากฟิลิปปินส์พบเพียงร้อยละ 46 [22]

นอกจากน้ำนมคนแต่ละคนมีชนิดของฟูโคซิลโอลิโกแซคคาไรด์แตกต่างกัน และยังมีปริมาณแปรผันตามแต่ละช่วงของการให้นมบุตรของมารดาแต่ละคน [23,24] สารเมตะบอไลต์เป็นตัวบ่งชี้ความหลากหลายของโอลิโกแซคคาไรด์ [25]

วิวัฒนาการของการสร้างโอลิโกแซคคาไรด์

โอลิโกแซคคาไรด์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีแลคโตส อันซึ่งเป็นกลูโคสต่อกับกาแลคโตสตรงตำแหน่งโมโนแซคคาไรด์มีอะโนเมอริกคาร์บอนอิสระ (anomeric carbon free) หรือมีปลายรีดิวซ์ (reducing end) ด้วยส่วนนี้เป็นสารตั้งต้น (precursors) อันจำเป็นต่อการสร้างโอลิโกแซคคาไรด์ [26] ส่วนสารไม่มีปลายรีดิวซ์ (non-reducing end) มักเป็นฟูโคสหรือกรดซาลิซิลิก (salicylic acid) [5]

สารคัดหลั่งน้ำนมดั้งเดิมของบรรพบุรุษผู้เลี้ยงลูกด้วยนมร่วมกันอาจมีไขมันและโปรตีน แต่ไม่มีคาร์โบไฮเดรต ยกเว้นมีความเข้มข้นของกลูโคสต่ำอันได้รับมาจากกระแสเลือดมารดา สันนิษฐานว่าไลโซไซม์ชนิดซี (C-type lysozyme) เป็นตัวตั้งต้นของอัลฟาแลคตัลบูมิน (α -lactalbumin) แรกเริ่มอัลฟาแลคตัลบูมินมีปริมาณต่ำเป็นผลให้การสังเคราะห์แลคโตสน้อยโดยสัมพัทธ์ [26] อัลฟาแลคตัลบูมินดัดแปลงเอ็นไซม์กาแลคโตซิลทรานสเฟอเรส (galactosyltransferase) ให้ยอมรับกลูโคสเป็นตัวรับ นำไปสู่การสร้างแลคโตสและโอลิโกแซคคาไรด์อิสระ (free oligosaccharide) [27] การมีอัลฟาแลคตัลบูมินน้อยทำให้อัตราการสร้างแลคโตสเชิงซ้ำ การสร้างโอลิโกแซคคาไรด์จึงใช้แลคโตสเกือบหมด ส่วนวิวัฒนาการด้านการติดเชื้อของโอลิโกแซคคาไรด์เริ่มจากการสร้างอัลฟาแลคตัลบูมินเพิ่มมากขึ้น เป็นผลให้แลคโตสเพิ่มขึ้น

เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานและควบคุมปริมาณน้ำนม [26]

น้ำนมคนมีโอลิโกแซคคาไรด์จำเพาะประกอบไปด้วย lacto-N-biose I (LNB) ($\text{Gal } \beta 1 \rightarrow 3 \text{GlcNAc}$) type I ขณะที่น้ำนมสัตว์ชนิดพันธ์อื่นเป็น type II [26]

การสร้างโอลิโกแซคคาไรด์จากต่อมน้ำนม

เอ็นไซม์ไกลโคซิลทรานสเฟอเรส (glycosyltransferase) ของต่อมน้ำนมหลายชนิดมีหน้าที่สร้างโอลิโกแซคคาไรด์จากสารหลายชนิด เช่น กลูโคส กาแลคโตส ฟรุคโตส กรดซาลิซิลิก และ เอ็นอะซีติลกลูโคซามีน (N-acetylglucosamine) โดยต่อสารเป็นเส้นตรงหรือแตกกิ่ง เอ็นไซม์นี้ยังพบในเซลล์อื่นของร่างกาย และทำหน้าที่สังเคราะห์ไกลโคลิปิดและไกลโคโปรตีน [1] ดังนั้นสามารถพบโอลิโกแซคคาไรด์โครงสร้างคล้ายในน้ำนมเลือดและลำไส้เล็ก [1,28]

การแสดงออกของยีนสร้างเอ็นไซม์ไกลโคซิลทรานสเฟอเรสส่งผลต่อชนิดและปริมาณของโอลิโกแซคคาไรด์ของน้ำนมคนแตกต่างกัน และทำให้เกิดความหลากหลายเช่น ยีนสร้างฟรุคโตซิลทรานสเฟอเรสตำแหน่งย่อยบนสารก่อภูมิคุ้มกันด้านทานก่อภูมิคุ้มกันแบบการเพิ่มฟรุคโตสเข้าไปในโมเลกุล (fucosylated epitopes) บนโอลิโกแซคคาไรด์ [29]

แลคโตสเป็นสารตั้งต้นสร้างโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้น น้ำนมคนพบ 2' ฟรุคโตซิลแลคโตสมากที่สุด [30] ส่วนโอลิโกแซคคาไรด์สายยาวใช้ lacto-N-tetraose หรือ lacto-N-neotetraose เป็นโครงสร้างหลัก โดยนำน้ำตาลมาต่อเป็นเส้นตรง เป็นกิ่ง หรือต่อด้วยฟรุคโตสเลต (fucosylate) หรือไซอะโลเลต (sialylate) [31]

น้ำนมเหลืองและน้ำนมระยะเปลี่ยนผ่าน (ระยะหลังวันที่ 4 ถึง 10 หลังคลอด) (transitional milk) พบโอลิโกแซคคาไรด์มากที่สุด ทั้งนี้การผลิตโอลิโกแซคคาไรด์มีปริมาณคงที่ตลอดช่วงการให้นมบุตร [32] โอลิโกแซคคาไรด์ของน้ำนมไม่ขึ้นกับภาวะโภชนาการของมารดาผู้ให้นมบุตร แต่ขึ้นอยู่กับการพันธุกรรม [33]

คุณสมบัติของโอลิโกแซคคาไรด์

ในหลอดทดลองโอลิโกแซคคาไรด์ในน้ำนมคนย่อยไม่ได้มาก [34] ดังนั้นโอลิโกแซคคาไรด์ไม่มีคุณค่าทางโภชนาการเชิงสารอาหารต่อเด็กอ่อน [1]

บทบาทของโอลิโกแซคคาไรด์ในทางเดินอาหาร

น้ำนมคนประกอบด้วยโอลิโกแซคคาไรด์อิสระไม่สามารถย่อยได้ ทั้งในระบบทางเดินอาหารตอนบนของเด็กอ่อน [35] และหลอดทดลอง [34] โมเลกุลของโอลิโกแซคคาไรด์ทนต่อสภาวะเป็นกรดของทางเดินอาหารส่วนต้น และไม่สามารถย่อยและดูดซึมในลำไส้เล็กเพราะปราศจากเอ็นไซม์ไกลโคซิเดส (glycosidase) เฉพาะที่อย่างชัดเจน [35]

ในหลอดทดลอง น้ำนมคนประกอบด้วยโอลิโกแซคคาไรด์ช่วยเจริญพัฒนาเซลล์ลำไส้เล็ก [36] ส่วนฟรุคโตสเลตโอลิโกแซคคาไรด์ (fucosylated oligosaccharide) สามารถลดการหดตัวของลำไส้ใหญ่ อันอาจส่งผลดีต่อการป้องกันเซลล์ลำไส้ตาย [37]

พรีไบโอติก (prebiotic)

ปริมาณแบคทีเรียในลำไส้เล็กของเด็กอ่อนผู้กินนมผงสูตรดัดแปลงมีปริมาณต่ำกว่าเด็กอ่อนผู้กินน้ำนมคนอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะแบคทีเรียสกุล (family) Enterobacteriaceae [38]

ลำไส้เล็กไม่ดูดซึมโอลิโกแซคคาไรด์ของน้ำนมคนกว่า 200 ชนิด แต่โอลิโกแซคคาไรด์กลับเป็นอาหารสำหรับแบคทีเรียลำไส้เล็ก (พรีไบโอติก) เช่น แบคทีเรียวงศ์ (genus) Bifidobacterium [39,40] ส่วนผสมพิเศษเฉพาะของโอลิโกแซคคาไรด์ประเภทกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้น (short chain galactooligosaccharides) และฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์สายยาว (long chain fructooligosaccharides) สามารถเพิ่มปริมาณแบคทีเรียวงศ์ Bifidobacterium [41] เอ็นไซม์ของเซลล์แบคทีเรียวงศ์ Bifidobacterium ได้แก่ 1,3- β -Galactosyl-N-acetylhexosamine

phosphorylase ทำหน้าที่ย่อยโอลิโกแซคคาไรด์ในน้ำนมเป็น galacto-N-biose (GNB) และ lacto-N-biose I (LNB) [42]

แบคทีเรียวงศ์ Bifidobacterium ชนิดพันธุ์ (species) *Bif. longum* และ *Bif. bifidum* ใช้โอลิโกแซคคาไรด์เป็นแหล่งคาร์บอน ขณะที่ *Bif. breve* ใช้โอลิโกแซคคาไรด์น้อยกว่าหรือใช้โอลิโกแซคคาไรด์หลากหลาย [43] นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งอาหารแล้วโอลิโกแซคคาไรด์ยังเพิ่มการจับของแบคทีเรีย *Bif. longum* ของลำไส้เล็ก และกระตุ้นกระบวนการถอดรหัส (transcription) [44]

อย่างไรก็ตาม เด็กอ่อนคลอดก่อนกำหนดระหว่างเด็กอ่อนผู้กินนมมารดาและนมผงสูตรดัดแปลงผสมกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ไม่พบความแตกต่างของแบคทีเรียวงศ์ Bifidobacterium ทว่าเป็นที่น่าสังเกตว่ากลุ่มเด็กอ่อนผู้กินนมมารดาของการศึกษานี้เป็นผู้ได้รับสารปฏิชีวนะปริมาณสูง [45]

สาร 2'-fucosyllactose (2'-FL) และ 3'-fucosyllactose (3'-FL) พบในน้ำนมคน แต่ไม่พบในน้ำนมหนู เมื่อให้สารทั้งสองแก่หนูพบว่า สามารถเพิ่มปริมาณแบคทีเรียสกุล Porphyromonadaceae ของลำไส้เล็กหนู และโดยเฉพาะอย่างยิ่งวงศ์ Barnesiella ได้แก่ *B. intestihominis* และ *B. visceriola* [46] นอกจากนี้การให้สาร 2'-FL และ 3'-FL ยังสามารถกระตุ้นเอ็นไซม์ α -L-fucosidase ให้แบคทีเรียวงศ์ Bifidobacterium สร้างแลคเตท (lactate) และกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid - SCFA) ขณะที่แบคทีเรียชนิดพันธุ์ *Lactobacillus delbrueckii*, *Enterococcus faecalis* และ *Streptococcus thermophiles* เจริญเติบโตได้น้อยมาก [47]

โอลิโกแซคคาไรด์ป้องกันจุลชีพเกิดโรค

น้ำนมคนประกอบด้วยไกลแคนอิสระ (free glycan) หลากหลายโครงสร้าง ไกลแคนสามารถยับยั้งจุลชีพเหตุเกิดท้องเสีย [48] ไวรัสไข้หวัดใหญ่ ไวรัสเหตุเกิดลำไส้อักเสบหนู [49] และโนโรไวรัส (norovirus) [50]

ส่วนน้ำตาลของคาร์โบไฮเดรตมีพันธะยึดเหนี่ยวอะตอมให้อยู่ร่วมกันกับสารไกลโคคอนจูเกต (glycoconjugate) เป็นเสมือนส่วนใช้จับกับจุลชีพเกิดโรคระบบทางเดินอาหาร [51]

โอลิโกแซคคาไรด์ของน้ำนมคนป้องกันการจับระหว่างไวรัสและแบคทีเรีย กับคาร์โบไฮเดรตบริเวณลำไส้เล็ก [1] ป้องกันเยื่อบุกระเพาะปัสสาวะ [52] ยับยั้งจุลชีพเกิดโรคทางเดินอาหาร *E. coli* [53] ความสามารถป้องกันเกิดจากโครงสร้างของโอลิโกแซคคาไรด์คล้ายไกลโคโปรตีนและไกลโคลิปิดของตัวรับ (receptor) บริเวณผิวเซลล์ สามารถจับกับจุลชีพเกิดโรค [54,55] ยกตัวอย่าง α -1-2 Fucosylated chains (H-2 and Lewis) โครงสร้างคล้ายตัวรับจับกับแบคทีเรียวงศ์ Campylobacter [56] ส่วนสาร 2'-FL และ 3'-FL สังเคราะห์สามารถยับยั้งจุลชีพเกิดโรคระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ *E. coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* จับกับเซลล์ลำไส้เล็ก [57]

โอลิโกแซคคาไรด์กระตุ้นภูมิคุ้มกัน

โอลิโกแซคคาไรด์ของน้ำนมคนไม่ป้องกันการติดเชื้อรีโทรไวรัส (retrovirus) แต่กลับสามารถลดโรคท้องเสียอันเกิดจากรีโทรไวรัสในหนู ด้วยการกระตุ้นภูมิคุ้มกันเพื่อตอบสนองต่อรีโทรไวรัสและเพิ่มแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ [58] โอลิโกแซคคาไรด์สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันผ่านการกระตุ้นเซลล์สร้างภูมิคุ้มกันโดยตรง หรือกระตุ้นผ่านแบคทีเรียลำไส้เล็ก [59] โอลิโกแซคคาไรด์จากน้ำนมเหลืองของวัวแม้ว่ามีปริมาณน้อยกว่า กลับสามารถกระตุ้นกระบวนการถอดรหัสของยีนสร้างภูมิคุ้มกัน เช่นเดียวกับโอลิโกแซคคาไรด์ของน้ำนมคน [60]

การตรวจวัดโอลิโกแซคคาไรด์

ตรวจวัดปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ของน้ำนมด้วยเครื่องตรวจสอบสเปกตรัมของแสงเรียงต่อกัน เพื่อตรวจหาประจุไฟฟ้าของมวลสารด้วยเครื่องตรวจสอบสเปกตรัมของแสงตัวที่หนึ่ง และประจุไฟฟ้าอันเป็นผลผลิตของสารตั้งต้นด้วยเครื่องตรวจสอบสเปกตรัมของ

แสงตัวที่สอง เพื่อหาสารหลายตัว (multiple reaction monitoring – MRM) เริ่มจากการกำจัดไขมันออกด้วยการตกตะกอนด้วยเอทานอล แล้วใช้สาร NaBH_4 ที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 1.5 ชั่วโมง ตามด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (solid phase extraction) แห้ง (lyophilize) ตัวอย่าง จากนั้นวิเคราะห์แบบผสมผสานโดยการแยกองค์ประกอบของส่วนผสมเพื่อระบุแต่ละองค์ประกอบด้วยการดูกลืนแสง การปล่อยกระแสไฟฟ้าผ่านของเหลวหรือละอองของเหลว และเทคนิคการวิเคราะห์ผลการวัดสัดส่วนมวลต่อประจุ (liquid chromatography – electrospray ionization – mass spectrometry) [61] หรือวิเคราะห์โดยแยกสารในหลอดเล็กด้วยหลักการสารมีขนาดและประจุไฟฟ้าต่างกัน และเทคนิคการวิเคราะห์ผลการวัดสัดส่วนมวลต่อประจุเหนี่ยวนำด้วยเลเซอร์เรืองแสง capillary electrophoresis – laser induced fluorescence – mass spectroscopy) [62] หรือการแยกสารในหลอดขนาดเล็กด้วยหลักการว่า สารมีขนาดและประจุไฟฟ้าต่างกันเมื่อผ่านวุ้นเชิงซ้อน และการตรวจจับด้วยเลเซอร์กระตุ้นการเรืองแสง (multiplexed capillary gel electrophoresis; laser induced fluorescence detection – LIF) [63]

แยกโอลิโกแซคคาไรด์เป็นกลางและเป็นกรด โดยแยกสารในหลอดเล็กด้วยหลักการว่า สารมีขนาดและประจุไฟฟ้าต่างกันในหลอดเล็ก และใช้ 2-aminoacridone [64] นอกจากนี้การตรวจแยกน้ำนมยังสามารถวิเคราะห์ตรวจแยกโอลิโกแซคคาไรด์ของปัสสาวะและอุจจาระในเด็กอ่อน [65]

การผลิตโอลิโกแซคคาไรด์

สามารถผลิตโอลิโกแซคคาไรด์โครงสร้างไฮอะไลเลตและกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์คล้ายคลึงกับน้ำนมคน โดยใช้เอ็นไซม์ *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase [66] และผลิตซาลิไซลิกแคน (3'-sialyl และ 6 sialyl glycans) โดยใช้เอ็นไซม์ *Pasteurella multocida* sialyltransferase [67]

นอกจากนี้ยังผลิตโอลิโกแซคคาไรด์ผ่านกระบวนการวิศวกรรมกระบวนการสร้างและสลาย (metabolic engineering) แบคทีเรีย โดยใช้แบคทีเรีย *E. Coli* กระตุ้นให้ยีน beta 1, 3 N acetyl glucosaminyltransferase IgtA แสดงออกเพื่อสร้าง trisaccharide และเมื่อยีน beta 1, 4 galactosyltransferase IgtB แสดงออกพร้อมกับ IgtA พบว่าโอลิโกแซคคาไรด์มีโมโนแซคคาไรด์สามตัว (trisaccharide) ถูกเปลี่ยนเป็น lacto-N-neotetraose และ lacto-N-neoheaxose [68]

ปัจจุบันนักวิจัยสามารถสร้างโอลิโกแซคคาไรด์สังเคราะห์จำนวนมาก [69,70] โอลิโกแซคคาไรด์สังเคราะห์โครงสร้างเหมือนกับ 2'-Fucosyllactose (2'FL) [71] และ Lacto-N-neotetraose [72] และผ่านการทดสอบความปลอดภัยระดับก่อนคลินิก กล่าวคือช่วงเวลา 90 วันไม่พบผลเสียต่อการเพิ่มน้ำหนักขึ้นของน้ำหนักตัวและน้ำหนักอวัยวะ ปราศจากพยาธิสภาพทางคลินิกและจุลพยาธิวิทยา ส่วน Lacto-N-neotetraose และฟรุโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นโอลิโกแซคคาไรด์สังเคราะห์และผ่านการทดสอบระดับคลินิกแล้ว [73]

โอลิโกแซคคาไรด์มาตรฐาน

โอลิโกแซคคาไรด์เชิงพาณิชย์ใช้ตรวจวัดเปรียบเทียบมาตรฐานโอลิโกแซคคาไรด์ได้แก่ lacto-N-tetraose (LNT), lactose-N-fucopentaose I (LNFP-I), sialyllacto-N-tetraose c (LSTc), 3'-sialyllactose (3'-SL), 6'-sialyllactose (6'-SL), 2-fucosyllactose (2'FL), lacto-N-hexose (LNH) [61]

โอลิโกแซคคาไรด์ในนมผงสูตรดัดแปลง

โอลิโกแซคคาไรด์ในน้ำนมคนมีโครงสร้างซับซ้อนจนยากผลิตน้ำนมคนเป็นอุตสาหกรรม ดังนั้นนมผงสูตรดัดแปลงนิยมใช้กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์สังเคราะห์ทดแทน [74]

โอลิโกแซคคาไรด์ในน้ำนมแพะ

น้ำนมแพะประกอบด้วยโอลิโกแซคคาไรด์อิสระ 1.17 กรัมต่อลิตร การมีหรือไม่มียีนสร้าง $\alpha s1$ -casein เป็นผลให้การเพิ่มพูนโคสเข้าไปในโอลิโกแซคคาไรด์แตกต่างกัน แต่โดยรวมปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ไม่แตกต่างกัน [75] น้ำนมแพะมีโอลิโกแซคคาไรด์มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่น นอกจากนี้โครงสร้างของโอลิโกแซคคาไรด์ของน้ำนมแพะยังคล้ายกับน้ำนมคน [76]

มารดากินโอลิโกแซคคาไรด์

เมื่อมารดากินพรีไบโอติกประเภทพรุติโตโอลิโกแซคคาไรด์ขณะตั้งครรภ์หรือระหว่างให้นมบุตรส่งผลให้น้ำนมมีสารภูมิคุ้มกัน interleukon-27 เพิ่มขึ้น [77]

สภาวะของมารดาต่อปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์

เบาหวานขณะตั้งครรภ์ไม่มีผลต่อระดับโอลิโกแซคคาไรด์ของน้ำนม แต่การเกิดกระบวนการเติมคาร์โบไฮเดรตสายโพลีเปปไทด์ (glycosylation) ของอิมมูโนโกลบูลินในสารคัดหลั่ง (secretory immunoglobulin A – sIgA) ลดลง และกระบวนการเติมคาร์โบไฮเดรตในสายโพลีเปปไทด์ของแลคโตเฟอริน (lactoferrin) ของน้ำนมระยะเปลี่ยนผ่านเพิ่มขึ้น [78]

สรุป

น้ำนมคนมีโครงสร้างโอลิโกแซคคาไรด์หลากหลาย จนยากผลิตนมผงสูตรดัดแปลงให้เหมือนน้ำนมคนอย่างสิ้นเชิง อีกทั้งโครงสร้างของโอลิโกแซคคาไรด์แต่ละชนิดมีบทบาทส่งเสริมสุขภาพแตกต่างกันไม่ว่าด้านการเป็นสารพรีไบโอติก การต่อต้านเชื้อโรค การเพิ่มปริมาณแบคทีเรียชนิดดีของลำไส้ใหญ่ และการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ดังนั้นต้องวิจัยการปลูกฤทธิ์เหล่านี้เพิ่มเติม กระนั้นก็ตามสำหรับเด็กอ่อนน้ำนมคนเป็นแหล่งโอลิโกแซคคาไรด์ที่ดีที่สุด

เอกสารอ้างอิง

1. Hennet T, Weiss A, Borsiq L. Decoding breast milk oligosaccharides. *Swiss Med Wkly.* 2014;144:w13927.
2. Newburg DS, Neubauer SH. Carbohydrate in milk: analysis, quantities, and significance. In: Jensen RG, editor. *Handbook of milk composition.* San Diego: Academic Press; 1995. p. 273–349.
3. Kunz C, Rudloff S, Baier W, Klein N, Strobel S. Oligosaccharides in human milk: structural, functional, and metabolic aspects. *Annu Rev Nutr.* 2000;20:699–722.
4. Pratico G, Capuani G, Tomassini A, Baldassarre ME, Delfini M, Miccheli A. Exploring human breast milk composition by NMR-based metabolomics. *Nat Prod Res.* 2014;28(2):95–101.
5. Newburg DS. Glycobiology of human milk. *Biochemistry (Mosc).* 2013;78(7):771–85.
6. Kobata A. Isolation of oligosaccharides from human milk. In: Ginsburg V, editor. *Complex Carbohydrates, Part B. Vol. 28.* New York: Academic Press; 1972. p. 262–71.
7. Kobata A. Milk glycoproteins and oligosaccharides. In: Horowitz MI, Pigman W, editors. *Mammalian Glycoproteins and Glycolipids, Vol. 1.* New York: Academic Press; 1978. p. 423–40.
8. Stahl B, Thurl S, Zeng J, Karas M, Hillenkamp E, Steup M, et al. Oligosaccharides from human milk as revealed by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Anal Biochem.* 1994;223(2):218–26.
9. Newburg DS (2000). Are all human milks created equal? Variation in human milk

- oligosaccharides. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000;30(2):131–3.
10. Marx C, Bridge R, Wolf AK, Rich W, Kim JH, Bode L. Human milk oligosaccharide composition differs between donor milk and mother's own milk in the NICU. *J Human Lact.* 2014;30(1):54–61.
 11. Urashima T, Taufik E, Fukuda K, Asakuma S. Recent advances in studies on milk oligosaccharides of cows and other domestic farm animals. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2013;77(3):455–66.
 12. Newburg DS. Oligosaccharides and glycoconjugates in human milk: their role in host defense. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 1996;1(3):271–83.
 13. Holmgren J, Svennerholm AM, Lindblad M. Receptor-like glycocompounds in human milk that inhibit classical and El Tor *Vibrio cholerae* cell adherence (hemagglutination). *Infect Immun.* 1983;39(1):147–54.
 14. Andersson B, Porras O, Hanson LA, Lagergard T, Svanborg-Eden C. Inhibition of attachment of *Streptococcus pneumonia* and *Haemophilus influenza* by human milk and receptor oligosaccharides. *J Infect Dis.* 1986;153(2):232–7.
 15. Ashkenazi S, Mirelman D. Nonimmunoglobulin fraction of human milk inhibits the adherence of certain enterotoxigenic *Escherichia coli* strains to guinea pig intestinal tract. *Pediatr Res.* 1987;22(2):130–4.
 16. Newburg DS, Pickering LK, McCluer RH, Cleary TG. Fucosylated oligosaccharides of human milk protect suckling mice from heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli*. *J Infect Dis.* 1990;162(5):1075–80.
 17. Cravioto A, Tello A, Villafan H, Ruiz J, del Vedono S, Neeser JR. Inhibition of localized adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells by immunoglobulin and oligosaccharide fractions of human colostrum and breast milk. *J Infect Dis.* 1991;163(6):1247–55.
 18. Shchroten H, Hanisch FG, Plogmann R, Hacker J, Uhlenbruck G, Nobis-Bosch R, et al. Inhibition of adhesion of S-fimbriated *Escherichia coli* to buccal epithelial cells by human milk fat globule membrane components: a novel aspect of the protective function of mucins in the nonimmunoglobulin fraction. *Infect Immun.* 1992;60(7):2893–9.
 19. Korhonen H, Syvaaja EL, Ahola-Luttila H, Sivela S, Kopola S, Husu J, et al. Bactericidal effect of bovine normal and immune serum, colostrum and milk against *Helicobacter pylori*. *J Appl Bacteriol.* 1995;78(6):655–62.
 20. Lucas A, Cole TJ. Breast milk neonatal necrotizing enterocolitis. *Lancet.* 1990;336(8730):1519–23.
 21. Holman RC, Stoll BJ, Curns AT, Yorita KL, Steiner CA, Schonberge LB. Necrotising enterocolitis hospitalisations among neonates in the United States. *Paediatric Perinat Epidemiol.* 2006;20(6):498–506.
 22. Erney RM, Maloone WT, Skelding MB, Marcon AA, Kleman-Leyer KM, O'Ryan ML, et al. Variability of human milk neutral oligosaccharides in a diverse population. *J Pediatric Gastroenterol Nutr.* 2000;30(2):181–92.
 23. Chaturvedi P, Warren CD, Altaye M, Morrow AL, Ruiz-Palacios G, Pickering LK, et al. ucosylated human milk oligosaccharides vary

- between individuals and over the course of lactation. *Glycobiology*. 2001;11(5):365–72.
24. Thurl S, Munzert M, Henker J, Boehm G, Müller-Werner B, Jelinek J, et al. Variation of human milk oligosaccharides in relation to milk groups and lactational periods. *Br J Nutr*. 2010;104(9):1261–71.
 25. Smilowitz JT, O'Sullivan A, Barile D, German JB, Lönnerdal B, Slupsky CM. The human milk metabolome reveals diverse oligosaccharide profiles. *J Nutr*. 2013;143(11):1709–18.
 26. Urashima T, Fukuda K, Messer M. Evolution of milk oligosaccharides and lactose: a hypothesis. *Animal*. 2012;6(3):369–74.
 27. Oftedal OT. The evolution of milk secretion and its ancient origins. *Animal*. 2012;6(3):355–68.
 28. Marioneau S, Cailleau-Thoman A, Rocher J, Le Moullac-Vaidye B, Ruvoen N, et al. ABH and Lewis histo-blood group antigens, a model for the meaning of oligosaccharide diversity in the face of a changing world. *Biochimie*. 2001;83(7):567–73.
 29. Le Pendu J. Histo-blood group antigen and human milk oligosaccharides: genetic polymorphism and risk of infectious diseases. *Adv Exp Med Biol*. 2004;554:135–43.
 30. Castanys-Monoz E, Martin MJ, Prieto PA. 2'-fucosyllactose: an abundant, genetically determined soluble glycan present in human milk. *Nutr Rev*. 2013;71(12):773–89.
 31. Kobota A. Structures and application of oligosaccharides in human milk. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 2010;86(7):731–47.
 32. Coppa GV, Pierani P, Zampini L, Carloni I, Carlucci A, Gabrielli O. Oligosaccharides in human milk during different phases of lactation. *Acta Paediatr Suppl*. 1999;88(430):89–94.
 33. Erney R, Hilty M, Pickering L, Ruiz-Palacios G, Prieto P. Human milk oligosaccharides: a novel method provides insight into human genetics. *Adv Exp Med Biol*. 2001;501:285–97.
 34. Gnoth MJ, Kunz C, Kinne-Saffran E, Rudloff S. Human milk oligosaccharides are minimally digested in vitro. *J Nutr*. 2000;130(12):3014–20.
 35. Engfer MB, Stahl B, Finke B, Sawatzki G, Daniel H. Human milk oligosaccharides are resistant to enzymatic hydrolysis in the upper gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr*. 2000;71(6):1589–96.
 36. Holscher HD, Davis SR, Tappenden KA. Human milk oligosaccharides influence maturation of human intestinal Caco-2Bbe and HT-29 cell lines. *J Nutr*. 2014;144(5):586–91.
 37. Bienenstock J, Buck RH, Linke H, Forsythe P, Stanisz AM, Kunze WA. Fucosylated but not sialylated milk oligosaccharides diminish colon motor contractions. *PLoS One*. 2013;8(10):e76236. doi: 10.1371/journal.pone.0076236.
 38. Benno Y, Sawada K, Mitsuoka T. The intestinal microflora of infants: composition of fecal flora in breast-fed and bottle-fed infants. *Microbiol Immunol*. 1984;28(9):975–86.
 39. LoCascio RG, Ninonuevo MR, Freeman SL, Sela DA, Grimm R, Lebrilla CB, et al. Glycoprofiling of bifidobacterial consumption of human milk oligosaccharides demonstrates strain specific, preferential consumption of small chain glycans secreted in early human lactation. *J Agric Food Chem*. 2007;55(22):8914–9.
 40. Garrido D, Dallas DC, Mils DA. Consumption of human milk glycoconjugates by infant–

- associated bifidobacteria: mechanisms and implications. *Microbiol.* 2013;159(Pt4):649–64.
41. Oozeer R, van Limpt K, Ludwig T, Ben Amor K, Martin R, Wind RD, et al. Intestinal microbiology in early life: specific prebiotics can have similar functionalities as human–milk oligosaccharides. *Am J Clin Nutr.* 2013;98(2):S561–71.
 42. Kitaoka M. Bifidobacterial enzyme involved in the metabolism of human milk oligosaccharides. *Adv Nutr.* 2012;3(3):S422–9.
 43. Ruiz–Moyano S, Totten SM, Garrio DA, Smilowitz JT, German JB, Lebrilla CB, et al. Variation in consumption of human milk oligosaccharides by infant gut–associated strains of *Bifidobacterium breve*. *Appl Environ Microbiol.* 2013;79(19):6040–9.
 44. Kavanaugh DW, O’Callaghan J, Buttó LF, Slattery H, Lane J, Clyne M, et al. Exposure of *Bifidobacterium longum* subsp. *Infantis* to milk oligosaccharides increases adhesion to epithelial cells and induces a substantial transcriptional response. *PLoS One.* 2013;8(6):e67224.
doi:10.1371/journal.pone.0067224
 45. Underwood MA, Kalanetra KM, Bokulich NA, Mirmiran M, Barile D, Tancredi DJ, et al. Prebiotic oligosaccharides in premature infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014;58(3):352–60.
 46. Weiss GA, Chassard C, Hennot T. Selective proliferation of intestinal *Barnesiella* under fucosylactose supplementation in mice. *Br J Nutr.* 2014;111(9):1602–10.
 47. Yu ZT, Chen C, Newburg DS. Utilization of major fucosylated and sialylated human milk oligosaccharides by isolated human gut microbes. *Glycobiology.* 2013;23(11):1281–92.
 48. Morrow AL, Ruiz–Palacios GM, Jiang X, Newburg DS. Human–milk glycans that inhibit pathogen binding protect breast–feeding infants against infectious diarrhea. *J Nutr.* 2005;135(5):1304–7.
 49. Yu Y, Mishra S, Song X, Lasanajak Y, Bradley KC, Tappert MM, et al. Functional glycomic analysis of human milk glycans reveals the presence of virus receptors and embryonic stem cell biomarkers. *J Biol Chem.* 2012;287(53):44784–99.
 50. Shang J, Piskarev VE, Xia M, Huang P, Jinag X, Likhoshesterov LM, et al. Identifying human milk glycans that inhibit norovirus binding using surface plasmon resonance. *Glycobiology.* 2013;23(12):1491–8.
 51. Peterson R, Cheah WY, Grinyer J, Packer N. Glycoconjugates in human milk: protecting infants from disease. *Glycobiology.* 2013;23(12):1425–38.
 52. Lin AE, Autran CA, Espanola SD, Bode L, Niget V. Human milk oligosaccharides protect bladder epithelial cells against uropathogenic *Escherichia coli* invasion and cytotoxicity. *J Infect Dis.* 2014;209(3):389–98.
 53. Manthey CF, Autran CA, Eckmann L, Bode L. Human milk oligosaccharides protect against enteropathogenic *Escherichia coli* attachment in vitro and EPEC colonization in suckling mice. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014;58(2):167–70.
 54. Kunz C, Rudloff S. Biological functions of oligosaccharides in human milk. *Acta Paediatr.* 1993;82(11):903–12.
 55. Zopf D, Roth S. Oligosaccharide anti–infective agents. *Lancet.* 1996;347(9007):1017–21.

56. Cervantes LE, Newburg DS, Ruiz-Palacios GM, α 1-2-Fucosylated chains (H-2 and Lewis) are the main human milk receptor analogs for *Campylobacter*. *Pediatr Res*. 1995;37:171A.
57. Weichert S, Jennewein S, H fner E, Weiss C, Borkowski J, Putze J, et al. Bioengineered 2'-Fucosyllactose and 3'-fucosyllactose inhibit the adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* and enteric pathogens to human intestinal and respiratory cell lines. *Nutr Res*. 2013;33(10):831-8.
58. Li M, Monaco MH, Wang M, Comstock SS, Kuhlenschmidt TB, Fahey GC Jr, et al. Human milk oligosaccharides shorten retrovirus-induced diarrhea and modulate piglet mucosal immunity and colonic microbiota. *ISME J*. 2014;8(8):1609-20.
59. Jeurink PV, van Esch BC, Rijniwse A, Garssen J, Knippels LM. Mechanisms underlying immune effects of dietary oligosaccharides. *American J Clin Nutr*. 2013;98(2):S572-7.
60. Lane JA, O'Callaghan J, Carrington SD, Hickey RM. Transcriptional response of HT-29 intestinal epithelial cells to human and bovine milk oligosaccharides. *Br J Nutr*. 2013;110(12):2127-37.
61. Hong Q, Ruhaak LR, Totten SM, Smilowitz JT, German JB, Lebrilla CB. Label-free absolute quantitation of oligosaccharides using multiple reaction monitoring. *Anal Chem*. 2014;86(5):2640-7.
62. Albrecht S, Schols HA, van den Heuvel EG, Voragen AG, Gruppen H. CE-LIF-MSn profiling of oligosaccharides in human milk and feces of breast-fed babies. *Electrophoresis*. 2010;31(7):1264-73.
63. Kottler R, Mank M, Hennig R, Muller-Werner B, Stahl B, Reichl U, et al. Development of a high-throughput glycoanalysis method for the characterization of oligosaccharides in human milk utilizing multiplexed capillary gel electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *Electrophoresis*. 2013;34(16):2323-36.
64. Galeotti F, Coppa GV, Zampini L, Maccari F, Galeazzi T, Padella L, et al. Capillary electrophoresis separation of human milk neutral and acidic oligosaccharides derivatized with 2-aminoacridone. *Electrophoresis*. 2014;35(6):811-8.
65. De Leoz ML, Wu S, Strum JS, Ninonuevo MR, Gaerlan SC, Mirmiran M, et al. A quantitative and comprehensive method to analyze human milk oligosaccharide structures in the urine and feces of infants. *Anal Bioanal Chem*. 2013;405(12):4089-105.
66. Holck J, Larsen DM, Michalak M, Li H, Kjaerulff L, Kirpekar F, et al. Enzyme catalyzed production of sialylated human milk oligosaccharides and galactooligosaccharides by *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase. *N Biotechnol*. 2014;31(2):156-65.
67. Guo Y, Jers C, Meyer AS, Arnous A, Li H, Kirpekar F, et al. A *Pasteurella multocida* sialyltransferase displaying dual trans-sialidase activities for production of 3'-sialyl and 6'-sialyl glycans. *J Biotechnol*. 2014;170:60-7.
68. Priem B, Gilbert M, Wakarchuk WW, Heyraud A, Samain E. A new fermentation process allows large-scale production of human milk

- oligosaccharides by metabolically engineered bacteria. *Glycobiology*. 2002;12(4):235–40.
69. Lee WH, Pathanibul P, Quarterman J, Jo JH, Han NS, Miller MJ, et al. Whole cell biosynthesis of a functional oligosaccharide, 2'-fucosyllactose, using engineered *Escherichia coli*. *Microb Cell Fact*. 2012;11:48–56.
 70. Baumgartner F, Seitz L, Sprenger GA. Construction of *Escherichia coli* strains with chromosomally integrated expression cassettes for the synthesis of 2'-fucosyllactose. *Microb Cell Fact*. 2013;12:40–52.
 71. Coulet M, Phothirath P, Allais L, Schilter B. Pre-clinical safety evaluation of the synthetic human milk, nature-identical, oligosaccharide 2'-O-fucosyllactose (2'FL). *Regul Toxicol Pharmacol*. 2014;68(1):59–69.
 72. Coulet M, Phothirath P, Constable A, Marsden E, Schilter B. Pre-clinical safety assessment of the synthetic human milk, nature-identical, oligosaccharide Lacto-N-neotetraose (LNnT). *Food Chem Toxicol* 2013;62:528–37.
 73. Prieto PA. In vitro and clinical experiences with a human milk oligosaccharide, Lacto-N-neoTetraose and fructooligosaccharides. *Foods Food Ingredient J JAPAN* 2005;210:1018–30.
 74. Intanon M, Arreola SL, Pham HN, Kneifel W, Haltrich D, Nguyen TH. Nature and biosynthesis of galacto-oligosaccharides related to oligosaccharides in human breast milk. *FEMS Microbiol Lett*. 2014;353(2):89–97.
 75. Meyrand M, Dallas DC, Caillat H, Bouvier F, Martin P, Barile D. Comparison of milk oligosaccharides between goats with and without the genetic ability to synthesize α s1-casein. *Small Rumin Res*. 2013;113(2–3):411–20.
 76. Kiskini A, Difilippo E. Oligosaccharides in goat milk: structure, health effects and isolation. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 2013;59(1):25–30.
 77. Kubota T, Shimojo N, Nonaka K, Yamashita M, Ohara O, Igoshi Y, et al. Prebiotic consumption in pregnant and lactation woman increase IL-27 expression in human milk. *Br J Nutr*. 2014;111(4):625–32.
 78. Smilowitz JT, Totten SM, Huang J, Grapov D, Durham HA, Lammi-Keefe CJ, et al. Human milk secretory immunoglobulin A and lactoferrin N-glycans are altered in women with gestational diabetes mellitus. *J Nutr* 2013;143(12):1906–12.