



## 유산균 유전학 및 최근 연구 혁신: 프로바이오틱스와 면역

윤성식\* · 박영서<sup>1</sup> · 최학종<sup>2</sup>

연세대학교 생명과학기술학부, <sup>1</sup>가천대학교 식품생물공학과, <sup>2</sup>세계김치연구소

### Genetics and Research Revolutions in the Lactic Acid Bacteria: Focused on Probiotics and Immunomodulation

Sung-Sik Yoon\*, Young-Seo Park<sup>1</sup>, and Hak-Jong Choi<sup>2</sup>

Division of Biological Science and Technology, Yonsei University, Wonju 220-710, Korea

<sup>1</sup>Department of Food Science and Biotechnology, Gachon University, Seongnam 461-701, Korea

<sup>2</sup>World Institute of Kimchi, Gwangju 503-360, Korea

**Abstract:** As for probiotics, that is generally defined as a live cell supplement which is able to bring health benefits to their hosts, even though the concept is still remains in controversy. Scientific works has given positive answers to the questions about if many LAB strains function as probiotic bacteria in human and animals. Currently, the interactions between human and LAB are actively investigated in human intestine. From a biodiversity perspective, this particular subject in human intestine is also extensively explored by a number of researchers worldwide. So far, it has been found that new strains and new genes were discovered in gut microbiota which is reported unique in individual. Complete analysis on gut microbiota is necessary in order to understand the possible beneficial roles of LAB in human intestinal track. When it comes to qualification, a probiotic strain is proved to be safe to consume and healthful to human after it is orally administered. On the other hand, LAB is present as a member of gut microbiota, plays an important role in innate immunity and acquired immunity. Their immune-modulation activity is occurred not only in intestine but also systemic in human body. It is generally accepted that immune function by LAB is not genus-specific but strain-specific. More recently, new mechanism accounting for interactions between host and LAB has been understood after a soluble factor from LAB was found to be directly associated with the epidermal growth factor receptor (EGFR) on intestinal epithelial cells. The soluble factor could be applied in the development of therapeutic agents. In conclusion, future research focus should be placed on the studies on the new LAB factors affecting human immune responses and its desirable effects because many different kinds of fermented foods representing kimchi have survived for a long time and those are popularly consumed in this country.

**Keywords:** lactic acid bacteria, landmark research, probiotics, gut-microbiota, immunomodulation activity

#### 유산균의 분류학적 특성

지구상에 존재하는 수많은 생명체 중에서 미생물은 통상적으로 육안으로 관찰할 수 없을 정도로 미세한 생명체이지만 눈에 보이는 생명체와 비교하여도 실로 자연계에서 그들의 역할은 상상을 초월할 정도로 엄청나다. 본 총설에서는 유산균(lactic acid bacteria)의 정의, 분류학적 문제점,

유산균 유전학의 발전과 주요 학자들의 연구 주제, 프로바이오틱스(probiotics)로서 유산균의 효능과 전제조건, 마지막으로 현재 유산균 학계에서 화두가 되고 있는 유산균의 면역조절작용을 중심으로 기술하고 한다.

#### 유산균의 정의

유산균은 동서고금을 막론하고 인류가 장구한 세월 동안 섭취한 음식의 발효를 담당해 온 미생물 집단이다. 발효과정에서 만들어진 주요산물이 젖산(lactic acid)이기 때문에 유산균의 또다른 이름은 젖산균이다. 소위 ‘유산균’이라는 용어는 관용명이고 이 집단의 세균이 속한 분류학적인 위치를 가리키는 것은 결코 아니다. 생화학적으로는 포도당과 같은 당류를 발효하여 에너지를 획득하고, 다량의 젖산을 생성하는 세균의 총칭으로서, Gram 염색 양성, 핵산 내 낮은

\*Corresponding author: Sung-Sik Yoon, Division of Biological Science and Technology, Yonsei University, Wonju 220-710, Korea

Tel: 82-33-760-2251, Fax: 82-33-760-5576

E-mail: sunsik@yonsei.ac.kr

Received October 3, 2012; Revised October 17, 2012;

Accepted October 26, 2012

[G+C]%, 산에 대한 내성을 가진 비아포성 간균 또는 구균이다. 일반적으로 유산균의 정의에 좀더 부합하는 세균은 *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Weissella* 등의 균 속이 해당된다(Gilliland, 1990; Klein *et al.*, 1998). 산소가 별로 없는 조건(미호기성) 하에서 각종 식품을 시어지게 함으로써 식품의 부패를 막고 장기간 저장할 수 있도록 하는 이 미생물이 오늘날에는 프로바이오틱스(probiotics, 活生菌)의 대명사로 불리면서 학계, 산업계는 물론 건강을 염려하는 일반 대중의 관심의 대상이 되고 있다.

### 유산균 분류의 문제점

앞에서 언급한 바와 같이 현재 유산균의 범위는 매우 포괄적이며 그 분류학적 위치는 애매모호한 점이 많다. 유산균을 계통적으로 분류하면 종래의 형태적 특징에 따른 분류체계와 모순이 생긴다. 즉, 형태적으로 간균인 *Lactobacillus* 속은 구형에 가까운 *Pediococcus* 및 *Leuconostoc* 속 균종들과 뒤섞이게 되고, 또 생리적 특성에 따라서 분류하면 *Lactobacillus*는 thermo-strepto-betabacterium에 속하므로 역시 계통적 분류와도 서로 부합하지 않는다. 형태적으로 구형의 *Streptococcus* 속도 계통분류학적으로 유연관계가 매우 높은 *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* 속 균종들과 모양이 다르다. 논란이 되고 있는 *Bifidobacterium* 속은 종종 *Lactobacillus* 그룹으로 분류되지만 정확하게 말하면 *Actinomyces* 목에 속하는 그람 양성 진정세균이다. 최근에 “국제세균명명위원회”에서는 *Lactobacillus casei*로 알려진 거의 모든 균주들은 *L. paracasei*로 바꾸었고, *L. bulgaricus*는 *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*로, *Streptococcus thermophilus*는 *S. salivarius* subsp. *thermophilus*로, *L. bavaricus*와 *L. sakei*는 *L. sakei*로, *Bifidobacterium lactis*는 *B. animalis*에 속하지만 상업적인 이유로 *B. animalis* subsp. *lactis*로 명명하는 사례가 있었다. Fig. 1에 나타난 바와 같이 2000-2010년까지 10년 동안 *Lactobacillus* 속 171개 균종 중 83개가 새로 발견된 균주였다(Gilliland, 1990). 이처럼 유산균에 속하는 미생물의 숫자는 지속적으로 증가하고 있고 그 수가 늘어나는 만큼 분류학적 혼란은 당연한 것일 수도 있다. 지금까지 유산균 스타터 연구에서 빠지지 않고 단골 메뉴로 등장하는 유산균은 *Streptococcus* 속(표준균주 외에 대부분 *Lactococcus* 속으로 변경됨) 균주들이다. 이것들은 발효유 제조 시 첨가되는 스타터로서 널리 이용되어왔기 때문으로 생각된다. 영국 University of Reading의 A. Hirsch 교수(1952)는 streptococci가 동물을 가축화한 이후 자연으로부터 우유로 진화하였다는 흥미로운 가설을 주장하였다. 그 이유는 다음과 같다. 1) streptococci 균주는 비병원성임, 2) 포도당 배지에서 자랄 때 유당대사(lactose metabolism)를 상실함(유전적 불안정성), 3) streptococci는 채소와 우유에서 공통적으로 발견(2개의 서식처), 4) *S. cremoris*는 *Lactococcus lactis*가 생산하는 nisine에 가장 감

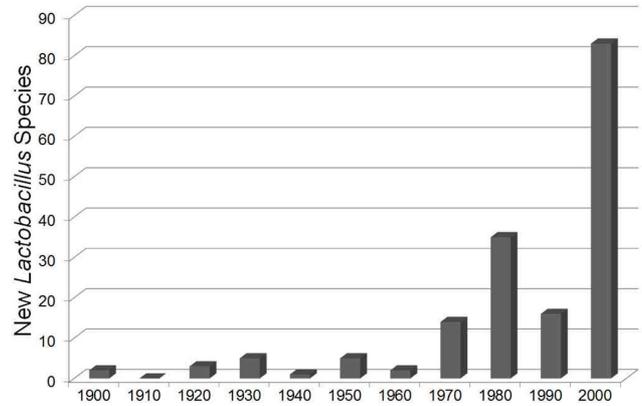


Fig. 1. Number of new *Lactobacillus* species described per decade over the last century (Ledeborer *et al.*, 2011).

수성이 크다. 이러한 그의 진화가설은 상당 부분 일리가 있으나 이에 대한 유산균 전문가들의 의견은 분분하다. 현재 일본에서는 발효유용 유산균과 구분하여 식물성 유산균이라는 용어를 사용하고 있으나 국제적으로 통용되는 학술용어는 아니고, 국내에서도 김치 등에서 발견된 유산균은 기존 유산균과는 구분해서 부르자는 제안이 있는 것도 사실이다. 실제로 유산균 스타터의 생리적 불안정성(유당대사, 단백질 분해활성, 구연산염 이용성, 박테리오파지 내성 등) 이라든지 유산균 동정과 분류학적 위치, 우유 중에서 잘 자라는 미생물들의 까다로운 증식 조건 등 유산균의 특성과 관련된 많은 의문이 남아있기 때문에 유산균의 명칭 및 분류학적 혼란은 정리되기가 어려울 것처럼 보인다.

### 유산균 유전학의 초석

#### 초창기 동향과 연구 주제

세계적으로 유산균의 연구가 활발하게 이루어진 계기는 발효유제품의 건강에 대한 유용효과가 인식되면서 소비가 늘었기 때문이다. 역사적으로 보면 *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*와 같은 미생물을 연구한 학자들 집단에 비하면 유산균을 연구한 학자들은 유럽, 미국, 일본 등 소수 몇 명에 불과하였다(Table 1). 시작은 언제나 그렇듯이 하찮은 것처럼 보였던 유산균 연구가 오늘날처럼 프로바이오틱스라는 거대한 화두로 성장한 원동력은 아마도 이 세균이 낙농제품, 육류, 채소, 포도주 발효 등 식품의 발효에 응용될 수 있었기 때문일 것이다. 1970년대 후반 네덜란드 Groningen 대학, Netherland Institute for Dairy Research (NIZO)에서 일하던 소수의 유산균 학자들은 심포지엄을 개최하여 그들의 유산균 연구 결과를 발표하기로 결의하였다(이것이 1983년 창립된 LAB Symposium의 모태가 된다). 당시 모임의 주축이었던 Jack Stadhouders 박사는 유산균 스타터 개발을 위한 연구에 몰두하고 있었다. 현재도 그가 개발한 치즈용 혼합스타터(mixed starter culture)가 Adam 치즈, Gouda 치즈

**Table 1. Examples of early landmark contributions of various research groups to the development of starter cultures and probiotic microbes (Ledeborer *et al.*, 2011)**

Group Leader	Country	Topic
Tomotari Mitsuoka	Japan	Gastrointestinal microbiology
Jack Stadhouders	Netherlands	Mixed culture starter concept
William Sandine	USA	Starter culture microbiology
Larry McKay	USA	Plasmid biology and gene transfer systems in lactococci
Mike Gasson	UK	Plasmids and their conjugal transfer in lactococci
Marvin Speck	USA	Concentrated culture technologies for development of sweet acidophilus milk
Robert Sellers	USA	Commercially employing bifidobacteria as a probiotic
Gerard Venema	Netherlands	Developing gene cloning systems
Audrey Jarvis and R.C. Lawrence	New Zealand	Bacteriophages and starter systems for lactococci
Barry Law	UK	Proteolytic enzyme systems
Charlie Daly	Ireland	Mesophilic starter culture microbiology
Jean-Pierre Acoolas	France	Thermophilic starter cultures
Otto Kandler	Germany	Carbohydrate metabolism
Mike Teuber	Germany	Bacteriophages of LAB
Todd Klaenhammer	USA	Bacteriophage resistance mechanisms, bacteriocins and probiotics
Willem de Vos	Netherlands	Cloning and expression vectors for lactococci

즈 생산에 사용된다. 그들은 산학협력을 통하여 유산균을 연구하는 젊은 대학원생을 집중적으로 양성하기 시작했다. 1980년대 초, Wil Konings, Jeroen Hugenholtz, Arnold Driessen, Willem de Vos, Roel Otto 등이 바로 그들이다. 이들은 당시 Groningen 대학 유전공학과 교수였던 Gerard Venema와 Wageningen 대학 Hans Veldkamp 교수 연구실에서 유산균의 유전학 연구를 본격적으로 착수하게 된다(Ledeborer A *et al.*, 2011). 그들은 plasmid biology의 선구자라 할 수 있는 Larry McKay 박사 연구팀이 발표한 streptococci 플라스미드 pWV05에 크게 고무되어 유산균 유전학 연구에 몰두하였고, 얼마 후 그들에 의해서 여러 가지 유산균 유래 plasmid들이 속속 발견되었다. Minnesota 대학의 Larry McKay 박사는 미국에서 유산균 유전학 연구에 관한 한 대부로 불린다. 그는 유산균 plasmid 기능, 제한 및 수식체계(restriction/modification system), 파지(bacteriophage), 접합(conjugation), 유당대사 유전학(genetics of lactose metabolism) 등과 관련된 수많은 연구결과를 발표하였다. 그에 비견되는 유럽의 대표적인 학자는 Gerard Venema 교수라 해도 과언이 아니다. 그는 본래 *B. subtilis*를 연구하다가 유산균 연구에 뛰어들었다. 최초로 유산균의 plasmid transfer에 성공하였고, 동료인 Jan Kok 교수는 plasmid를 이용한 형질전환에 성공함으로써 유산균을 유전적으로 개량하는 새로운 장을 활짝 열었다.

#### 유산균 스타터 및 프로바이오틱스에 대한 주요 연구업적들

Table 1은 유산균 스타터 및 프로바이오틱스 연구의 이정표를 세운 한 학자들과 국가별 리스트이다. McKay, Klaenhammer(미국), Venema, de Vos, Stadhouders(네덜란드), Gasson, Law(영국), Accolas, Kandler(독일) 등이 당시 활 동하였고 아시아에서는 일본 Mitsuoka 박사가 유일하게 올

라있다. 장내 균총에 대한 Mitsuoka 박사의 연구업적은 서양 학자들에 비교해도 결코 손색이 없다고 생각하나 본고에서는 지면상 그의 연구업적을 생략한다. 타 유럽 국가와는 달리 네덜란드의 유산균 학자들은 서로 협력하면서 정부로부터 TI Food & Nutrition 연구비 지원을 받아 유산균 유전학 연구의 추진력을 얻게 된다. 한편 미국에서는 1988년 전국에 6개의 National Dairy Center Research Program을 도입하면서 미생물학자들의 유산균 스타터 개발 연구비를 지원하였다. Oregon 주립대학 교수인 William Sandine 박사는 유산균 스타터 연구그룹의 리더였다. 그는 동료인 Paul Elliker와 공동으로 발효유 제조에 사용되는 새로운 스타터 미생물을 원유와 다른 소재에서 분리하고자 노력하였다. 그의 개척자적 노력 덕분에 미국에는 Larry McKay, Todd Klaenhammer와 같은 걸출한 유산균 학자들이 속속 배출되었다. Table 2에는 지난 30년간 유산균 연구의 이정표가 될 정도로 학술적 가치가 인정되는 연구주제 목록이다. 유산균의 호모(homo) 및 헤테로(hetero) 발효, probiotic 및 prebiotic 개념, 유산균 플라스미드 유래 유전자(plasmid-encoded genes), 게놈염기서열판독(genome sequencing), 전달매개체(delivery vehicle)로서 유산균의 응용, 프로바이오틱 유산균의 건강증진 효과, 파지내성균의 방어체계로서 clustered regularly interspaced short palindromic repeats(CRISPR) 서열의 발견 등이 학계에 기여한 주요업적으로 기술되어 있다(Ledeborer A *et al.*, 2011).

#### 장내에서 유산균은 프로바이오틱스 (probiotics)로 작용하는가

##### 프로바이오틱스의 정의

출생 전 인간의 소화기계는 무균상태이며 장내세균은 출

**Table 2. Landmark developments over the history of the LAB symposium (Ledeburrer et al., 2011)**

- Complete resolution of homo- and heterofermentation pathways and regulation of carbohydrate metabolism.
- Dissection of plasmid encoded traits in lactococci that drive key fermentation properties for lactose/galactose metabolism, proteolytic activity, citrate utilisation, nisin production, phage resistance properties, exopolysaccharide production and inorganic ion resistance.
- Discovery of conjugation and transduction genetic transfer mechanisms and development of transformation capabilities through electroporation.
- Elucidation of proteolytic, peptidase and transport systems for amino acid metabolism.
- Definitive taxonomic definition of LAB and phylogenetic relationships between species.
- Reclassification of group N streptococci to 'lactococci', and *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* to *Streptococcus thermophilus*, noting the evolution of these species to milk and their non-pathogenic nature.
- Definition and development of the prebiotic and synbiotic concepts.
- Discovery of a functional respiration pathway in lactococci.
- Genome sequencing of many LAB, bifidobacteria and propionibacteria, and related bacteriophages.
- Comparative genomic analyses of LAB and their bacteriophages to identify key similarities and differences and their novel gene sets.
- Metabolic engineering of sugar catabolism, energy metabolism, and product formation.
- Revealing mechanisms of stress tolerance and approaches to developing microbial cell stability by stress adaptation.
- Uncovering the many roles of LAB within the commensal intestinal microbiota, and influences on the ecosystems occupying the mucosa.
- Investigating health benefits of probiotic microbes (allochthonous - transient) and revealing mechanisms that define their activity and specific functional roles.
- Realising the immunomodulatory properties exerted by LAB and the influence of cell wall surface components in signaling to intestinal and immune cells.
- Defining the genetic basis of antibiotic resistance phenotypes in LAB (e.g. vancomycin, tetracycline, etc).
- Genetic engineering of LAB for delivery of biotherapeutics, vaccine and novel fermentation end products.
- Revealing strategies for biocontrol and containment of genetically engineered LAB.
- Regulation of gene expression by introns, antisense RNA.
- Functional demonstration of bacteriophage interference by CRISPR sequences in LAB.

생식후에 형성된다. 신생아는 생후 12-24개월이 되어서야 비로서 성인의 그것과 유사한 장내세균의 조성 및 균수를 형성한다고 알려져 있다. 한 번 형성된 장내 세균총은 비교적 안정하게 평생을 유지하며, 실제로 500종 이상의 균종이 성인의 장내에 존재하게 된다. 인간의 장은  $10^{14}$ 마리 이상의 살아있는 세균을 보유하고 있으며 이것은 전체 인간의 세포 수의 10배에 이른다. 프로바이오틱스라는 용어는 FAO/WHO에서는 '적절한 양을 유지하는 경우 숙주의 건강에 이로운 영향을 주는 생균총'이라 정의되며 프로바이오틱스로 인정받기 위해서는 다음과 같은 기준을 충족해야 한다. 1) 인간유래(human origin), 2) 생존성(viability in the gut), 3) 생리적 효과(measurable physiologic effects), 4) 안전성(safe use in humans), 5) 과학적 증거(scientifically documented clinical benefits in humans), 6) 가공공정 안전성(stability during all stages of production, packaging and preservation). 1989년 Fuller에 의해서 제시된 probiotics 정의(Fuller R, 1989)는 이후 여러 차례 수정되었으며, 각각의 정의에 대한 논쟁이 수년간 지속되다가 2001년 FAO/WHO 전문가협의체에서 현재와 같은 정의를 내렸다. 이 정의는 유럽식품안전청(EFSA)가 건강강조표시(health claim)을 평가할 때 사용하고 있다. FAO/WHO의 정의에 의하면 'probiotics란 살아있는 미생물로서 특이적으로 동정된 특성이 확인된 미생물'이다. 프로바이오틱 세균은 흔히 유산균을 지칭하지만 반드시 그런 것은 아니다. 무엇보다도

중요한 사항은 안전하게 먹을 수 있어야 하고 인간에게 투여하였을 경우 건강에 유의한 효과(health benefit)를 입증할 수 있어야 한다.

### 프로바이오틱 유산균의 기능

프로바이오틱스로서 유산균의 기능은 장내 균총에서 유산균의 역할과 밀접한 관계가 깊다. 인간이나 동물의 장내 균총을 분석하는 획기적인 연구 결과의 축적이 없이는 유산균의 프로바이오틱 효능은 불가능하였을 것이다. 지난 30여 년간 유산균 연구를 통하여 건강한 사람의 장내에는 lactobacilli가 가장 중요한 세균임이 확인되었다. 실제로 이들 유산균 집단이 총 분변미생물의 1%밖에 점유하지 못하지만 기존의 평판배양법을 사용하면 그 점유율이 6%까지 과대평가된다. 이처럼 미생물 배양에 의존해 왔던 장내 균총 연구의 문제점을 극복하기 위한 노력이 경주되었다. Erwin Zoetendal과 Hans Heilig는 PCR-DGGE 기술을 장내 균총을 연구에 적용하였으며, Antoon Akkermans와 Willem de Vos는 분자생태기술(molecular ecology technique)을 이용하여 장내 균총을 탐색하였다. 이들이 사용한 분자생태기술에는 ribotyping, PFGE, PCR-DGGE, 형광현미경법 등이 있다. 최근 배양이 불필요한 분자기법을 이용하여 장내 균총을 분석하면 인간의 소장에는 개인차가 있지만 자연상태에서 6-40%까지 lactobacilli가 존재한다고 한다(de Vos et al., 2005; Kleerebezem et al., 2003).

스위스 Fabrizio Arigoni 박사 연구에 의하면 bifidobacteria는 성인 분변 중 약 4% 존재하며, 유아분변 중에는 그보다 훨씬 높은 비율을 차지한다. 장정착성 유산균이 바람직하다는 의견이 분분하였다. 유산균의 장정착능은 새로 개발된 정교한 기술을 이용하면 비정착균과 분리해낼 수 있다. Probiotic 세균은 대부분 비정착성 통과성 세균이므로 분변에서 검출할 정도가 되려면 probiotic 균이 들어 있는 제품을 매일매일 섭취해야 한다는 주장이 제기되었으나 분변에서 세균의 검출과 관련하여 반드시 투여균이 장 점막에 정착(colonization)해야 가능한 것은 아니라는 주장이 오히려 설득력이 있다(Salminen *et al.*, 1996).

요컨대 종래의 배양법에 의존하는 장내균총 연구의 신뢰도는 크게 감소한 상태이므로 근래에는 molecular ecology 법 위주로 연구가 수행되고 있다. 실제로 분변 시료를 현미경으로 관찰하면 상당히 다양한 세균들이 관찰되나 동일한 시료를 배지에서 배양하면 증식되지 않는 경우가 많은 것은 “plate count anomaly” 현상 때문이다(Ledeborer *et al.*, 2011; de Vos *et al.*, 2005). Fig. 2에 표시한 바와 같이 장내 균총 연구는 유산균 관련 연구의 핵심영역이 되었다. DNA sequencing 기술, 숙주-장내 균총 상호작용, 16s rRNA를 이용한 동정, probiotic/prebiotic 식품개발, 유산균 및 파지 유전학 등이 밀접하게 연관된 차세대 학문 분야로 생각된다(Ledeborer *et al.*, 2011).

오늘날 장내 균총 연구에서 지속적으로 제기되는 주요 담론은 유산균의 다양성을 파악하는 일이다. Gerald Tannock, Elaine Vaughan, Jeol Dore 등이 피력한 바와 같이 생물다양성 연구는 그간 상당한 발전을 이룩하였다. 새로운 종과 새로운 유전자들이 다양성 연구 결과 발견되었으며 각 개인은 독특한 장내 균총을 가진다는 사실이 밝혀졌다. 게다가 장내 균총은 식이, 나이, 생활습관 등에 따라서 크게 영향을 받는다. 초기 장내 균총 연구에서는 분변과 흡사한 대장 하부 내용물의 균총 연구에 주력하였으나 현재 NIH Human Microbiome Project(HMP), 중국의 Meta-GUT project, EU의 MetaHIT 등과 같은 대형 연구사업이 수행되고 있다. 그리고 최근 확립된 생물정보학 기술이 장내 미생물과 유전자와의 상호관계를 파악하는데 크게 기여하고 이 분야의 연구성과가 폭발적으로 늘어나는 추세이다. 이미 여러 학자들이 probiotics가 특정환자군 뿐만 아니라 일반인들에게도 건강을 도모하는 유익한 효과가 있다고 주장하였다. 그러나 각 probiotic 균주는 균주 특이적(strain-specific)이기 때문에 그것과 매우 유사한 균주도 동일한 유용효과가 있다고 광의적으로 해석하는 것은 허용되지 않는다(Salminen *et al.*, 1996). 특정 probiotic 균주를 다른 균주와 혼합하거나 food matrix 내에 존재할 때에도 효과가 있느냐 없느냐의 문제는 더 체계적인 추가 실험이 필요하다. Probiotic 성질을 명확하게 파악하는 일, 정확한 동정, 표준균주(reference)를 국제적 균주은행에 기탁하도록

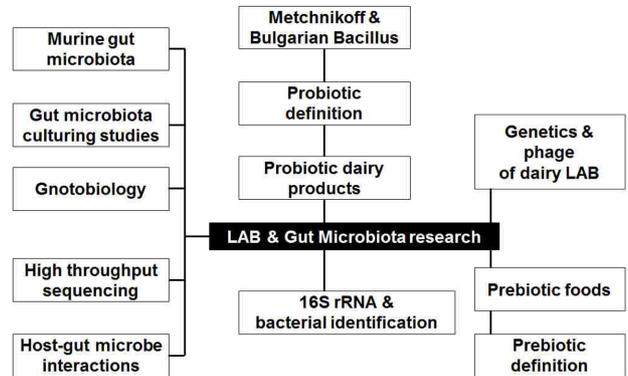


Fig. 2. Converging research efforts and themes that have resulted in the 21st century views of LABs and the gut microbiota (Ledeborer *et al.*, 2011).

의무화하는 것도 프로바이오틱스의 허용과 관련된 중요한 과제라고 생각된다.

### 프로바이오틱 유산균의 응용

종래에는 유산균의 역할이 식품보존 입장에서 맛있고 안전한 식품의 제조라는 기능에 국한되어 있었다. 유산균이 발휘하는 건강증진효과도 이러한 식품학적 기능의 일부로서 설명되었다. 1980년대 미국의 K. Sahani와 S. Gilliland 박사를 비롯한 여러 학자들이 건강에 미치는 유산균의 영향을 집중적으로 연구한 결과, 유산균의 잠재적 유용효과에는 anti-pathogenic, anti-cholesterolemic, anti-tumorigenic 효과 등이 있음이 발표되었다. 1990년대 초부터 유럽에서는 프로바이오틱스 연구연합체를 결성하여 유용효과를 구명하기 시작하였다. 유산균이 인체에 대하여 유익한 효과를 발휘한다는 점은 분명하나 아직 유산균의 투여가 질병의 치료나 면역조절에 효과가 있다는 의학적 증거가 아직은 부족하다. 그럼에도 불구하고 지속적인 유산균 투여연구를 통하여 유당분해, 설사, 면역조절, 장염 및 요도염의 예방(prophylaxis), 심지어 구강 백신으로서의 효과들이 연이어 발표되었다. 그 대표적인 연구로는 *L. rhamnosus* GG (LGG)를 이용한 rotavirus성 설사의 치료가 있다. 1996년 Seppo Salminen 박사는 유산균이 장점막에서 임상적으로 유익한 효과를 발휘하였다는 연구결과를 발표하기도 하였다(van Loveren *et al.*, 2012). 그 후 장 장벽(intestinal barrier), 균총 간 상호작용을 파악하는 쪽으로 연구목표가 수정되었다. 급성 rotavirus성 설사, 식품 알러지, 결장암과 같은 여러 질환의 발생과 관련된 임상연구들이 수행되었다. 이들 연구 중 가장 성공적인 것은 probiotics를 이용하여 설사 지속기간을 단축할 수 있었다는 보고이다. 그리고 세균성 자궁염증이 있는 HIV 양성 여성에게 유산균을 경구투여하여 긍정적인 효과를 얻은 사례, 유산균 투여에 의한 암 예방이 가능하다는 실험결과는 매우 의미 있는 발전이라고 판단된다.

1999년 Mary E. Sanders와 Jos Huis in't Veld는 probiotics를 함유한 식품의 상업적 판매를 언급하였다. 즉 probiotic 미생물의 조성, 제품특성, 안전성, 규제 및 광고 표현 등을 기술하였다(Sanders and Huis in't Veld, 1999). 미국과는 달리 유럽에서는 기능성을 가진 식품의 건강강조표시를 규제하면서 유용효과를 판정하는 업무를 지나칠 정도로 신중하게 검토하고 있다. 지금까지는 질병의 예방과 치료가 probiotics의 유용성을 판단하는 근거였으나 최근에는 대중에게 공통적인 유용효과에 초점을 맞추고 질병의 예방이나 치료에 효과가 있다는 주장은 절대 불허하되 질병위험성 감소(reduction of risk of disease)까지는 허용하려는 움직임이 있다. 유럽 이외에 여러 국가에서 probiotics의 건강강조표시에 대한 규제들이 실시되고 있으나 대체로 긍정적인 효과에 대한 과학적 구체화(scientific substantiation)를 제시하도록 권장하는 경향이다. 현재 유럽의 규제를 기준으로 보면 특정 probiotics를 함유한 식품이 건강강조표시를 구체화하기 위해서는 인간에 대한 중재실험(투여실험)이 반드시 필요하다. 그러므로 probiotic 균주를 제공하는 다국적 대기업의 관심과 노력이 무엇보다도 요구된다. 만약 불완전 probiotic health claim이 승인된다면 유산균 연구의 새로운 장이 열리고 기업의 판매전략에도 큰 변화가 예상된다(Klein *et al.*, 2010). 유산균 연구의 한가지 흥미로운 주제는 유산균의 백신전달체(vaccine delivery vehicle)로서의 기능이다. Jerry Wells 박사의 총설에서 기술된 바와 같이 유산균이 점막면역(mucosal immunization)의 난제를 극복하는데 활용될 수 있다는 가능성을 피력하였다. 유산균이 적절하게 항원전달체(antigen delivery vehicle)로 활용할 수 있다면 인체 내에서 면역반응을 유도할 수 있을 것이다. 실제로 probiotic 유산균이 생리적으로 효과가 있느냐 없느냐 또는 건강과 질병에 대한 변수로 작용하는지 않는지 문제는 학계는 물론 정부기관의 중요한 관심사가 되었다. 불완전 건강강조효과를 지지하는 강력한 증거를 확보할 수 있기를 크게 기대하고 있다.

유럽에서는 이미 동물을 이용한 실험모델이 개발되었다. 오랜 인류의 역사에서 젓산균이 발효식품의 제조에 사용되었음에도 불구하고 안전하게 이용되어 왔다는 사실은 유산균 섭취에 대한 소비자들의 막연한 걱정을 배제할 수 있는 증거로 판단된다. 그러나 프로바이오틱스에 대한 안전성을 평가하는 방법의 확립은 무엇보다도 중요하다. 이탈리아 Lorenzo Morelli 박사 연구진은 EU ACE-ART project를 수행하면서 유산균의 항생제 내성 획득, 형태적, 유전학적 안전성을 평가하고 있다(Morelli, 2000). 몇몇 학자들도 유산균과 식품알러지 발생의 인과관계를 연구한 바 있으나 그 결과는 아직 불확실하다. 유산균 투여에 의해서 알려지거나 오히려 악화되었다는 주장하는 일부 학자도 있었으나 그것은 immune tolerance 실패율이 증가했기 때문으로 추측된다. 현재까지 알러지에 대한 probiotics의 meta-analysis는 효

과가 없다는 쪽으로 결론이 내려졌으나 prebiotics와 혼합하여 인체에 투여하면 긍정적인 결과를 기대할 수도 있다. 이러한 결과들이 축적되면 유산균이 식품이나 의약품 개발에 응용되어 질병치료에도 활용될 수 있을 것이다. 이를 위해서는 물론 제기된 프로바이오틱 효능을 정확하게 평가하는 시스템의 구축이 시급히 선행되어야 할 것이다.

## 장내 유산균의 면역활성

유산균에 의한 면역활성에 대한 연구는 구강에서 분리한 유산균의 세포벽 및 세포막 구성성분이 면역을 활성화시켰다는 논문이 1976년 최초로 학계에 보고된 후 그 후속연구는 거의 없었다(Wicken and Knox, 1976). 그러다가 1993년 미국 위스컨신대학의 Lambrecht 교수팀이 *L. acidophilus*의 cell-free 추출물이 마우스 대식세포(macrophage)인 J774 세포주의 식세포 작용을 도와주는 결과를 보고하면서부터 활발하게 진행되기 시작하였다(Hatcher and Lambrecht, 1993). 이후 다양한 lactobacilli가 마우스에서 면역활성을 증가시키고, 이러한 효과는 유산균의 양과 균주의 종류에 의존한다는 것이 밝혀졌으며(Galdeano and Perdigon, 2004), 유산균은 숙주의 선천성면역과 후천성면역 활성을 증가 또는 조절하여 건강에 도움을 준다는 연구까지 발전하였다(Tsai *et al.*, 2012).

## 유산균에 의한 선천성면역 조절

선천성면역은 외부로부터 생체를 보호하는 첫 번째 방어벽일 뿐만 아니라 후천성면역 반응의 발달에 중추적인 역할을 한다. 선천성면역에 관여하는 세포로는 항원제시세포(antigen-presenting cells)인 대식세포, 수지상돌기세포(dendritic cells)와 자연살해세포(natural killer cells)가 대표적이며, 이들 세포는 외부 자극에 반응하여 전염증성(pro-inflammatory) 사이토카인(cytokine)을 분비한다. 특히 lactobacilli 균종들은 이들 세포를 자극하여 tumor necrosis factor(TNF)- $\alpha$ , interferon(IFN)- $\gamma$ , interleukin(IL)-6, IL-1 $\beta$ , IL-12와 같은 전염증성 사이토카인 분비를 유도하고, 식세포 작용과 항원제시 능력을 활성화시키는 한편 이들 세포 표면의 주요 조직적합성 복합체(major histocompatibility complex, MHC) 및 공조자극분자(co-stimulatory molecules)인 CD40, CD80, CD86, ICOS 등의 발현을 증가시킨다(Christensen *et al.*, 2002; Mohamadzadeh *et al.*, 2005; Perdigon *et al.*, 2002; Won *et al.*, 2011).

Tsai 등(2008)의 주장에 따르면 *L. paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101를 먹인 쥐의 경우 음성대조군에 비하여 성숙된 수지상돌기세포의 비율이 높게 나타났으며, 자연살해세포의 세포독성(cytotoxicity) 수준도 역시 음성대조군에 비하여 높게 나타났다. 놀랍게도 *L. paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101 투여를 끊은 경우에도 이러한 면역반

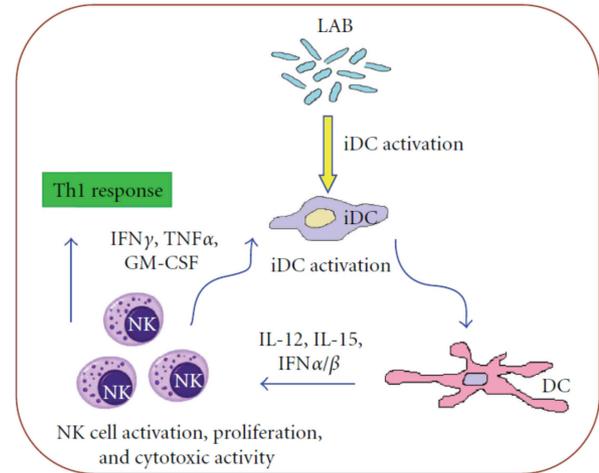
음이 지속되는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 프로바이오틱스 균주가 장내에 서식하면서 생체 면역을 조절한다는 인과관계를 간접적으로 지칭한 연구로 생각된다. *L. casei* Shirota 균주가 스타터로 사용된 발효유를 섭취한 마우스와 사람의 자연살해세포 활성이 증가되었으며, 이는 *L. casei* Shirota 균주가 항원제시세포의 IL-12 분비를 촉진시켜 자연살해세포의 활성을 증가시킨 결과로 해석된다 (Hori *et al.*, 2003; Rizzello *et al.*, 2011; Takeda *et al.*, 2006; Takeda and Okumura, 2007). 또한 *L. casei* 및 *B. longum*의 세포질 분획을 각각 먹은 마우스는 대조군에 비하여 자연살해세포의 세포독성이 증가되었으며, teratocarcinoma 세포주인 F9를 이식한 암 모델에서도 마우스의 생존 기간을 증가시키는 것으로 나타났다(Lee *et al.*, 2004). 근래에 들어 Cheon 등(2011)은 *L. acidophilus* La205이 직접적으로 자연살해세포와 반응하여 자연살해세포의 세포독성 효과를 증가시킨다고 보고하였는데, 이는 *L. acidophilus* La205 균주가 자연살해세포의 과립 세포의 배출작용(granule exocytosis)을 촉진시켜 세포독성활성을 증가시키는데 관여하는 것으로 보인다. Fig. 3은 유산균이 수지상돌기세포를 활성화시켜 1형 도움 T세포(T helper type 1, Th1) 사이토카인(IFN- $\gamma$ , IL-12 등) 분비를 촉진하고 이는 자연살해세포의 활성을 증가시켜 선천성면역을 조절하는 것을 보여주고 있다. 하지만 이러한 면역반응은 유산균의 종(species) 특이적 반응이 아니라 균주(strain) 특이적인 반응임을 상기할 필요가 있다. 이러한 유산균에 의한 선천성면역의 활성화는 항원제시세포의 표면에 발현되고 있는 Toll-like receptor(TLR)가 중추적인 역할을 한다는 의견이 지배적이다(Karlsson *et al.*, 2012; Koizumi *et al.*, 2008).

Koizumi 등(2008)은 TLR2와 TLR4가 각각 유전자 제거(knockout)된 마우스에서 분리한 수지상돌기세포는 유산균과 반응하여 IL-12의 생산이 자연형(wild-type)과 비교하여 현저히 감소됨을 관찰하였으며, 이는 유산균의 세포벽 구성성분이 TLR 리간드로서 작용한다는 것이 밝혀지게 되었다(Masuda *et al.*, 2011).

### 유산균에 의한 후천성면역 조절

후천성면역이라 함은 항원제시세포가 항원을 세포 내에서 가공하여 주요 조직적합복합체를 통하여 항원을 T세포에 전달함으로써 항원특이적 면역반응을 유도하는 것을 말한다. 후천성면역에 관여하는 세포는 크게 T세포와 B세포가 있으며, T세포에 의한 면역반응은 CD8 양성 T세포에 의한 세포독성 T세포반응과 CD4 양성 T세포에 의한 도움 T세포(Th) 반응으로 나뉜다.

Won 등(2011)은 김치에서 분리한 여러 *Lactobacillus* 속 균주가 ovalbumin (OVA)으로 감작시킨 마우스 T세포와 반응하여 OVA 특이적 T세포 반응을 증가시킴을 관찰하였고, 더 나아가서 여러 유산균들에 대한 Th1세포와 2형도



**Fig. 3. Activation of dendritic cells and natural killer (NK) cells in response to LAB. iDC, immature dendritic cells (Rizzello *et al.*, 2011).**

움 T세포(Th2) 사이토카인 분비 형식이 상이하다는 것을 증명하였다. 이는 매우 흥미로운 발견으로 각기 다른 유산균은 T세포 반응을 각각 다르게 나타냄으로써 후천성면역을 조절할 수 있다는 것을 시사한다. 또한 우리나라의 고유 발효식품인 김치 유산균들에 의한 T세포 면역반응 조절 연구라는 점에서 의의가 크다.

면역 항상성(homeostasis)은 Th1/Th2 면역반응의 균형이 중요한데 이러한 균형이 깨질 경우 알러지, 염증성 반응, 자가면역질환 등이 일어난다. 사람의 장에서 분리한 유산균은 CD4 T세포 면역반응을 일으켜 Th1형, Th2형, Th17형 및 조절 T세포(regulatory T cells, Treg)의 분화를 유도하는데(Jounai *et al.*, 2012), 이러한 반응들 역시 균주 특이적으로 나타난다. *L. plantarum* W21과 *B. lactis* W52 균주의 경우 CD4 양성 T세포 중에서 Treg의 표지인자인 Foxp3의 mRNA 발현을 증가시켰으며, *S. thermophilus* W67의 경우 Th2형 T세포 표지인자인 GATA3의 발현, *Lc. lactis* W19의 경우 T도움1형 T세포 표지인자인 T-bet의 발현, 그리고 *L. salivarius* W57는 Foxp3 뿐만 아니라 Th17형 분화 결정인자인 ROR $\gamma$ t의 발현을 촉진시키는 것으로 나타났다(de Rooock *et al.*, 2011). 또한 *S. thermophilus* ST28 균주의 경우 Th1 사이토카인인 IFN- $\gamma$ 의 발현을 촉진시켜 Th17형 면역반응을 억제하는 효과를 나타내기도 하였으며(Ogita *et al.*, 2011), 여러 종류의 *Lactobacillus* 속 균주(*L. gasseri* CJLF1, CJLF23, CJLF34, CJLF35, CJLF3 및 *L. plantarum* CJLP133, CJLP133, CJLP243, CJNR26, BJ53) 역시 마우스 비장에 존재하는 T세포로부터 IFN- $\gamma$ 의 생산을 촉진시켰다(Lee *et al.*, 2011). 이와는 다르게 *L. plantarum* NRIC1832 균주는 CD4 양성 T세포에 의한 면역조절 사이토카인인 IL-10의 분비를 촉진시키며(Noguchi *et al.*, 2012), *L. paracasei* BB5와 *L. rhamnosus* BB1 균주의 경우 CD4 양성 및 CD8

양성 Treg의 비장 내 빈도를 증가시키고 CD4 양성 Th2형 T세포의 세포사멸(apoptosis)을 유도하였다(Lin *et al.*, 2012). 또한 *L. plantarum* NRIC0380은 CD4 양성 Foxp3 양성 Treg의 분화를 촉진시켜  $\beta$ -lactoglobulin 특이적 IgE 항체 생산을 억제하는 효과를 나타냈다(Enomoto *et al.*, 2009).

수지상돌기세포는 생체 내에서 형질세포양(plasmacytoid) 수지상돌기세포와 골수성(myeloid) 수지상돌기세포 두 종류의 형태로 존재한다(Rizzello *et al.*, 2011). 이 중 형질세포양 수지상돌기세포는 바이러스나 박테리아성 핵산을 수지상돌기세포의 표면에 발현되고 있는 TLR7 또는 TLR9이 인지하여 제1형 인터페론(type I IFN, IFN- $\alpha$ )을 분비함으로써 면역반응을 조절한다(Brawand *et al.*, 2002). 여러 종류의 유산균 역시 형질세포양 수지상돌기세포를 활성화시켜 제1형 인터페론의 생산을 촉진시키는데, 특이한 점은 *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* 속과 같은 구균들만이 TLR9 신호연속단계를 활성화시켜 이러한 반응을 촉진시킨다는 것이다. 이렇게 활성화된 형질세포양 수지상돌기세포는 Treg 유도를 촉진하는 역할을 한다(Jounai *et al.*, 2012). 이와 더불어 5가지 프로바이오틱 균주가 혼합되어있는 IRT5의 섭취는 장간막림프절의 조절수지상돌기세포(regulatory dendritic cells; IL-10, TGF- $\beta$ , COX-2, indoleamine-2,3-dioxygenase 양성)를 생성하여 CD4 양성 Treg의 분화를 촉진시키며(Kwon *et al.*, 2010), *B. infantis* 35624 균주는 단구세포로부터 유도된 골수성 수지상돌기세포와 형질세포양 수지상돌기세포에서 TLR2와 TLR6 매개로 IL-10 분비를 촉진시켜 Foxp3 양성 Treg의 분화를 유도한다(Konieczna *et al.*, 2012). 이와 같이 유산균은 면역세포 특히 수지상돌기세포와 반응하여 각기 다른 형태의 후천성면역반응을 유도하는데 이는 유산균에 의한 선천성면역 반응 조절과 마찬가지로 균주 특이적 반응을 나타내는 특징이 있다.

### 유산균 투여에 의한 면역질환 완화 효과

앞에서 기술한 바와 같이 유산균은 면역을 활성화시키기도 하지만 면역을 억제시키는 기능도 가진다. *P. acidilactici* R037의 경우 제1형 조절T세포(Tr1; Foxp3 음성, IL-10 양성)의 분화를 유도하여 마우스 자가면역질환인 experimental autoimmune encephalomyelitis(EAE)의 발병 정도를 개선하는 효과를 나타냈는데, 이는 *P. acidilactici* R037 균주를 먹인 EAE 발병 마우스의 비장 또는 림프절 세포가 염증성 사이토카인인 IL-17과 IFN- $\gamma$ 을 대조군에 비해서 약하게 분비하기 때문이다(Takata *et al.*, 2011). 이는 유산균에 의한 자가면역질환의 개선 효과를 나타낸 최초의 연구로 유산균 식이가 사람의 자가면역질환인 다발성경화증(multiple sclerosis)의 치료에 효과가 있음을 암시하는 것이다.

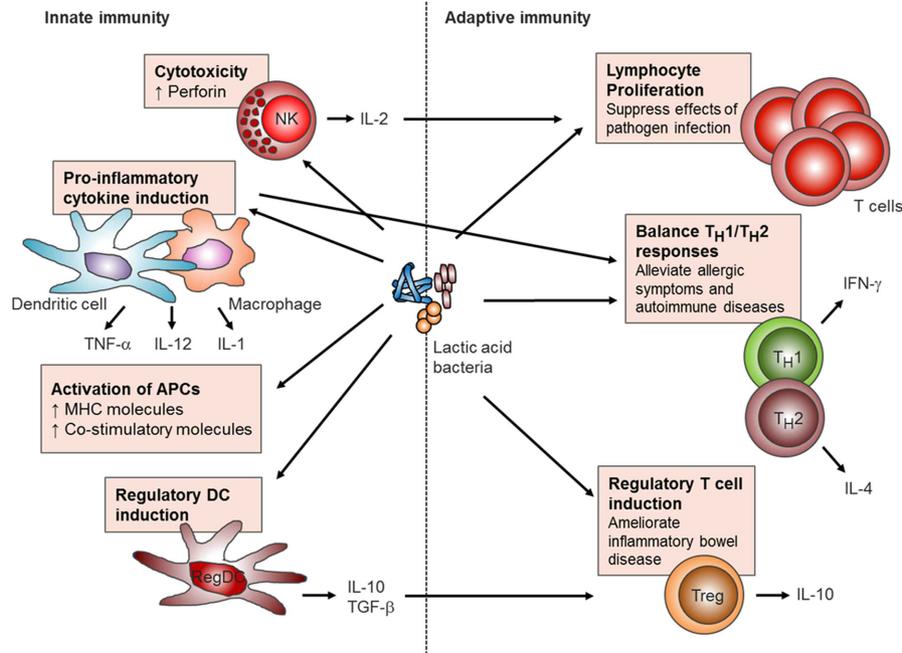
동물에 대한 유산균의 투여는 알러지 반응의 완화에도 효과적인 것으로 나타났다. *L. paracasei* KW3110가 Th1/Th2

균형을 Th1형으로 향하게 하여 마우스 알러지 모델에서 혈중 IgE 생산을 억제하는 효과는 나타났으며(Fujiwara *et al.*, 2004), 수지상돌기세포의 케모카인 수용체 CCR-7 및 공조 자극분자 PD-L2의 발현을 각각 증가시켜 국부로의 수지상돌기세포 이동을 촉진시켜 Th2형 면역반응을 억제함으로써 알러지 반응을 완화시킨다는 메커니즘으로 설명하였다(Inamine *et al.*, 2012). 또한 *L. casei* Shirota는 Th1형 및 Th2형 사이토카인 생산을 낮게 조절함으로써 알러지성 비염 특이적 IgE 수준을 저하시키는 것으로 나타났다(Ivory *et al.*, 2008).

프로바이오틱스는 장내에서 서식하면서 유해한 미생물의 생육을 저해하고 장내 점막 면역을 조절한다(Boirivand and Strober, 2007). *L. paracasei* ST11 투여는 실험적 결장염 마우스 모델에서 호중구 세포의 장내 침입을 저해하고 전염증성 사이토카인인 IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12의 수준을 낮춰 대장염증상을 호전시키는 것으로 나타났으며(Oliveira *et al.*, 2011), 앞에서 기술한 바와 같이 IRT5의 식이는 장내 Treg의 분화를 촉진시켜 염증성장질환(inflammatory bowel disease, IBD) 증상을 완화시키는 작용을 한다(Kwon *et al.*, 2010). LGG 균주에서 분리한 수용성 단백질 p40은 상피증식인자수용체(EGFR)와 반응하여 사이토카인에 유도되는 소장상피세포의 사멸 및 장막의 파괴를 억제하여 염증반응으로부터 소장을 보호하는 효과를 나타낸다(Yan *et al.*, 2007, 2011). 이는 유산균 유래 특이 단백질과 소장상피세포와의 상호작용을 나타낸 첫 보고로서 이를 이용하면 IBD 치료 항염증제 개발을 기대할 수도 있을 것이다.

### 병원성세균 감염증에 대한 유산균의 면역조절 효과

유산균은 숙주의 장내에 정착하여 유해 미생물의 생육을 저해하면서 숙주에게 이로운 효과를 준다(Mountzouris *et al.*, 2007). 이러한 효과는 유산균이 생산하는 유기산, 대사산물, 경쟁적 장상피세포 부착 능력, 장상피세포 손상 방지능, 숙주 면역활성 조절능 등에 의존한다(Candela *et al.*, 2008; Johnson-Henry *et al.*, 2008). *B. longum* subsp. *longum* JCM 1275T 균주는 결장에서 서식하면서 초산을 생산하고, 이는 숙주의 결장상피세포에서 항염증 및 항세포사멸 효과를 발휘하여 *E. coli* O157:H7 감염으로부터 숙주를 보호하는 효과 뿐만 아니라, *E. coli* O157:H7의 Shiga 독소의 혈중 전이를 저해하는 효과도 나타냈다(Fukuda *et al.*, 2011). 특히 *E. coli* O157:H7의 감염 시 항원제시세포의 TLR5에 의하여 flagella 특이적 IgG가 생산되는 면역반응이 일어나는데(McNeilly *et al.*, 2010). *L. paracasei* subsp. *paracasei* NTU101의 경우에는 Th2형 면역을 활성화시켜 *E. coli* O157:H7의 감염으로부터 숙주를 보호하는 효과가 있었다(Tsai *et al.*, 2010). *B. infantis* 35624 균주는 장내 Treg의 분화를 유도함으로써 *Salmonella* Typhimurium 감염에 의한 *in vivo* NF- $\kappa$ B 반응을 down-regulation하여 전염증성 사이토카인의 생



**Figure 4. Immunomodulatory effects of lactic acid bacteria on different health benefit. LAB exerts health benefit effects by inducing either innate immune response or adaptive immune response (Rizzello *et al.*, 2011).**

산을 억제하였으며, 장내에 잔존하는 *S. Typhimurium*의 균수도 감소하였다고 한다(O'Mahony *et al.*, 2008).

## 요 약

유산균은 생화학적으로는 당류를 발효하여 에너지를 획득하고 다량의 젖산을 생성하는 세균의 총칭으로, Gram 양성, 낮은 [G+C]%, 산에 대한 내성을 가진 비아포성 간균 또는 구균이다. 유산균의 계통분류학적 위치는 생리적 특징과 일치하지 않으며, 지난 10년 동안 *Lactobacillus* 속 171개 균종 중 83개가 새로 발견된 것일 정도로 계통분류학적으로 애매하다. 오랫동안 발효식품의 스타터로 주목되었던 종래의 연구의 방향이 1980년대 초기부터 유전학 쪽으로 발전하기 시작하였다. 네덜란드 Venema 교수와 Veldkamp 교수는 유산균 연구에 분자생물학적 지식을 본격적으로 도입한 학자들이다. 미국의 McKay 박사는 유산균 plasmid 기능, 제한 및 수식체계(restriction/modification system), 파지(bacteriophage), 접합(conjugation), 유당대사 유전학(genetics of lactose metabolism) 등과 관련된 많은 논문을 발표하였다. 한편 프로바이오틱스(일명 활생균)란 장내 균형을 증진시켜 숙주 동물에게 이로움을 주는 살아있는 미생물 첨가제로 정의된다. 오늘날 장내 균총 연구에서 제기되는 주요한 주제는 프로바이오틱 유산균의 다양성과 그 역할을 파악하는 일이다. 지금까지 연구결과 새로운 종과 새로운 유전자들이 다수 발견되었으며 각 개인은 독특한 장내 균총을 가지며 식이, 나이, 생활습관 등에 따라서 크게 영향을 받는다. 프로바이오틱 균주의 이상적

인 자격은 안전하게 먹을 수 있어야 하고 인간에게 투여하였을 경우 건강에 유익한 효과를 입증할 수 있어야 한다. 유산균은 숙주의 장내에서 공생하면서 계속적으로 선천적 면역반응과 후천적 면역반응을 조절하며, 이러한 면역조절은 장내에 국한된 것이 아니라 생체 전체의 면역반응에 영향을 미친다. 유산균은 Th1형 면역반응을 유도시켜 Th2형 면역반응을 제어함으로써 알러지 반응을 억제할 뿐 만 아니라 자연살해세포와 직접적인 상호작용을 통해 세포독성면역 역시 활성화시킨다. 특히 프로바이오틱스 유산균은 장내에 정착하면서 유해 미생물의 생육을 저해하고 유해 미생물에 의하여 나타나는 염증반응을 제어하여 숙주의 건강에 도움을 준다. 유산균에 의한 다양한 면역반응은 종 특이적 반응이 아니라 균주 특이적 반응으로 나타내는 특성을 나타낸다. 따라서 같은 종의 유산균이라도 각기 상이한 면역반응을 유도할 수 있으므로 프로바이오틱 균주를 선발함에 있어서는 기존의 선발 조건(산도내성, 담즙내성, 장상피세포 부착성 등) 외에도 면역반응성에 대한 기초 결과가 뒷받침 되어야 할 것이다. 근래 들어 장상피세포의 EGFR 수용체와 직접 작용하는 유산균 유래 수용성 인자가 발견됨에 따라 유산균과 숙주 사이의 상호작용에 대한 세포 내 작용기전의 이해가 가능하게 되었다. 또한 이러한 수용성 인자는 위장관 질환 및 알러지 반응의 새로운 치료제 개발 또는 발효식품으로의 응용이 가능할 것으로 기대된다. 따라서 숙주의 면역을 조절하는 새로운 생리활성인자를 탐색하고 이들의 유익한 효과를 학술적으로 밝히는 것은 발효 식품이 다양한 우리나라에서 추진해야 할 미래의 주요 연구주제라고 생각된다.

## 참고문헌

- Boirivant M and Strober W (2007) The mechanism of action of probiotics. *Curr. Opin. Gastroenterol.* **23**, 679-692.
- Brawand P, Fitzpatrick DR, Greenfield BW, Brasel K, Maliszewski CR, and De Smedt T (2002) Murine plasmacytoid dendritic cells generated from Flt3 ligand-supplemented bone marrow cultures are immature APCs. *J. Immunol.* **169**, 6711-6719.
- Candela M, Perna F, Carnevali P, Vitali B, Ciati R, Gionchetti P, Rizzello F, Campieri M, and Brigidi P (2008) Interaction of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains with human intestinal epithelial cells: Adhesion properties, competition against enteropathogens and modulation of IL-8 production. *Int. J. Food Microbiol.* **125**, 286-292.
- Cheon S, Lee KW, Kim KE, Park JK, Park S, Kim CH, Kim D, Lee HJ, and Cho D (2011) Heat-killed *Lactobacillus acidophilus* La205 enhances NK cell cytotoxicity through increased granule exocytosis. *Immunol. Lett.* **136**, 171-176.
- Christensen HR, Frokiaer H, and Pestka JJ (2002) *Lactobacilli* differentially modulate expression of cytokines and maturation surface markers in murine dendritic cells. *J. Immunol.* **168**, 171-178.
- de Roock S, van Elk M, Hoekstra MO, Prakken BJ, Rijkers GT, and de Kleer IM (2011) Gut derived lactic acid bacteria induce strain specific CD4+ T cell responses in human PBMC. *Clin. Nutr.* **30**, 845-851.
- de Vos WM, Kleerebezem M, and Kuipers OP (2005) Lactic acid bacteria - Genetics, metabolism and application. *FEMS Microbiol. Rev.* **29**, 391.
- Enomoto M, Noguchi S, Hattori M, Sugiyama H, Suzuki Y, Hanaoka A, Okada S, and Yoshida T (2009) Oral administration of *Lactobacillus plantarum* NRIC0380 suppresses IgE production and induces CD4+CD25+Foxp3+ cells *in vivo*. *BioSci. Biotechnol. Biochem.* **73**, 457-460.
- Fujiwara D, Inoue S, Wakabayashi H, and Fujii T (2004) The anti-allergic effects of lactic acid bacteria are strain dependent and mediated by effects on both Th1/Th2 cytokine expression and balance. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **135**, 205-215.
- Fukuda S, Toh H, Hase K, Oshima K, Nakanishi Y, Yoshimura K, Tobe T, Clarke JM, Topping DL, Suzuki T, Taylor TD, Itoh K, Kikuchi J, Morita H, Hattori M, and Ohno H (2011) Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature* **469**, 543-547.
- Fuller R (1989) Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* **66**, 365-378.
- Galdeano CM and Perdigon G (2004) Role of viability of probiotic strains in their persistence in the gut and in mucosal immune stimulation. *J. Appl. Microbiol.* **97**, 673-681.
- Gilliland SE (1990) Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* **7**, 175-188.
- Hatcher GE and Lambrecht RS (1993) Augmentation of macrophage phagocytic activity by cell-free extracts of selected lactic acid-producing bacteria. *J. Dairy Sci.* **76**, 2485-2492.
- Hori T, Kiyoshima J, and Yasui H (2003) Effect of an oral administration of *Lactobacillus casei* strain Shirota on the natural killer activity of blood mononuclear cells in aged mice. *BioSci. Biotechnol. Biochem.* **67**, 420-422.
- Inamine A, Sakurai D, Horiguchi S, Yonekura S, Hanazawa T, Hosokawa H, Matuura-Suzuki A, Nakayama T, and Okamoto Y (2012) Sublingual administration of *Lactobacillus paracasei* KW3110 inhibits Th2-dependent allergic responses via upregulation of PD-L2 on dendritic cells. *Clin. Immunol.* **143**, 170-179.
- Ivory K, Chambers SJ, Pin C, Prieto E, Arqus JL, and Nicoletti C (2008) Oral delivery of *Lactobacillus casei* Shirota modifies allergen-induced immune responses in allergic rhinitis. *Clin. Exp. Allergy* **38**, 1282-1289.
- Johnson-Henry KC, Donato KA, Shen-Tu G, Gordanpour M, and Sherman PM (2008) *Lactobacillus rhamnosus* strain GG prevents enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7-induced changes in epithelial barrier function. *Infect. Immun.* **76**, 1340-1348.
- Jounai K, Ikado K, Sugimura T, Ano Y, Braun J, and Fujiwara D (2012) Spherical lactic acid bacteria activate plasmacytoid dendritic cells immunomodulatory function via TLR9-dependent crosstalk with myeloid dendritic cells. *PLoS One* **7**, e32588.
- Karlsson M, Scherbak N, Reid G, and Jass J (2012) *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 enhances NF- $\kappa$ B activation in *Escherichia coli*-stimulated urinary bladder cells through TLR4. *BMC Microbiol.* **12**, 15.
- Kleerebezem M, Boekhorst J, van Kranenburg R, Molenaar D, Kuipers OP, Leer R, Turchini R, Peters SA, Sandbrink HM, Fiers MW, Stiekema W, Lankhorst RM, Bron PA, Hoffer SM, Groot MN, Kerkhoven R, de Vries M, Ursing B, de Vos WM, and Siezen RJ (2003) Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **100**, 1990-1995.
- Klein G, Pack A, Bonaparte C, and Reuter G (1998) Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.* **41**, 103-125.
- Klein M, Sanders ME, Duong T, and Young HA (2010) Probiotics: From bench to market. *Ann. NY Acad. Sci.* **1212**, E1-E14.
- Koizumi S, Wakita D, Sato T, Mitamura R, Izumo T, Shibata H, Kiso Y, Chamoto K, Togashi Y, Kitamura H, and Nishimura T (2008) Essential role of Toll-like receptors for dendritic cell and NK1.1+ cell-dependent activation of type 1 immunity by *Lactobacillus pentosus* strain S-PT84. *Immunol. Lett.* **120**, 14-19.
- Konieczna P, Groeger D, Ziegler M, Frei R, Ferstl R, Shanahan F, Quigley EM, Kiely B, Akdis CA, and O'Mahony L (2012) *Bifidobacterium infantis* 35624 administration induces Foxp3 T regulatory cells in human peripheral blood: Potential role for myeloid and plasmacytoid dendritic cells. *Gut.* **61**, 354-366.
- Kwon HK, Lee CG, So JS, Chae CS, Hwang JS, Sahoo A, Nam JH, Rhee JH, Hwang KC, and Im SH (2010) Generation of regulatory dendritic cells and CD4+Foxp3+ T cells by probiotics administration suppresses immune disorders. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **107**, 2159-2164.
- Ledeborner A *et al.* (2011) Thirty years of research on lactic acid bacteria. Proceed. 10th LAB Symp. 24 Media Labs, Rotterdam, Netherlands, pp. 2-168.
- Lee J, Yun HS, Cho KW, Oh S, Kim SH, Chun T, Kim B, and

- Whang KY (2011) Evaluation of probiotic characteristics of newly isolated *Lactobacillus* spp.: Immune modulation and longevity. *Int. J. Food Microbiol.* **148**, 80-86.
- Lee JW, Shin JG, Kim EH, Kang HE, Yim IB, Kim JY, Joo HG, and Woo HJ (2004) Immunomodulatory and antitumor effects in vivo by the cytoplasmic fraction of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium longum*. *J. Vet. Sci.* **5**, 41-48.
- Lin WH, Wu CR, Lee HZ, Kuo YH, Wen HS, Lin TY, Lee CY, Huang SY, and Lin CY (2012) Induced apoptosis of Th2 lymphocytes and inhibition of airway hyperresponsiveness and inflammation by combined lactic acid bacteria treatment. *Int. Immunopharmacol.* S1567-5769 (12) 00317-7.
- Masuda Y, Takahashi T, Yoshida K, Nishitani Y, Mizuno M, and Mizoguchi H (2011) TLR ligands of *Lactobacillus sakei* LK-117 isolated from seed mash for brewing sake are potent inducers of IL-12. *J. Biosci. Bioeng.* **112**, 363-368.
- McNeilly TN, Mitchell MC, Nisbet AJ, McAteer S, Erridge C, Inglis NF, Smith DG, Low JC, Gally DL, Huntley JF, and Mahajan A (2010) IgA and IgG antibody responses following systemic immunization of cattle with native H7 flagellin differ in epitope recognition and capacity to neutralise TLR5 signalling. *Vaccine* **28**, 1412-1421.
- Mohamadzadeh M, Olson S, Kalina WV, Ruthel G, Demmin GL, Warfield KL, Bavari S, and Klaenhammer TR (2005) Lactobacilli activate human dendritic cells that skew T cells toward T helper 1 polarization. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **102**, 2880-2885.
- Morelli L (2000) *In vitro* selection of probiotic lactobacilli: A critical appraisal. *Curr. Issues Intest. Microbiol.* **1**, 59-67.
- Mountzouris KC, Tsirotsikos P, Kalamara E, Nitsch S, Schatzmayr G, and Fegeros K (2007) Evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, and *Pediococcus* strains in promoting broiler performance and modulating cecal microflora composition and metabolic activities. *Poult. Sci.* **86**, 309-317.
- Noguchi S, Hattori M, Sugiyama H, Hanaoka A, Okada S, and Yoshida T (2012) *Lactobacillus plantarum* NRIC1832 enhances IL-10 production from CD4+ T cells *in vitro*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **76**, 1925-1931.
- Ogita T, Nakashima M, Morita H, Saito Y, Suzuki T, and Tanabe S (2011) *Streptococcus thermophilus* ST28 ameliorates colitis in mice partially by suppression of inflammatory Th17 cells. *J. Biomed. Biotechnol.* **2011**, 378417.
- Oliveira M, Bosco N, Perruisseau G, Nicolas J, Segura-Roggero I, Duboux S, Briand M, Blum S, and Benyacoub J (2011) *Lactobacillus paracasei* reduces intestinal inflammation in adoptive transfer mouse model of experimental colitis. *Clin. Dev. Immunol.* **11**, 807483.
- O'Mahony C, Scully P, O'Mahony D, Murphy S, O'Brien F, Lyons A, Sherlock G, MacSharry J, Kiely B, Shanahan F, and O'Mahony L (2008) Commensal-induced regulatory T cells mediate protection against pathogen-stimulated NF- $\kappa$ B activation. *PLoS Pathog.* **4**, e1000112.
- Perdigon G, Maldonado-Galdeano C, Valdez JC, and Medici M (2002) Interaction of lactic acid bacteria with the gut immune system. *Eur. J. Clin. Nutr.* **56**, S21-S26.
- Rizzello V, Bonaccorsi I, Dongarr ML, Fink LN, and Ferlazzo G (2011) Role of natural killer and dendritic cell crosstalk in immunomodulation by commensal bacteria probiotics. *J. Biomed. Biotechnol.* **2011**, 473097.
- Salminen S, Isolauri E, and Salminen E. (1996) Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. *Antonie Van Leeuwenhoek* **70**, 347-358.
- Sanders ME and Huis in't Veld J. (1999) Bringing a probiotic-containing functional food to the market: Microbiological, product, regulatory and labeling issues. *Antonie Van Leeuwenhoek* **76**, 293-315.
- Takata K, Kinoshita M, Okuno T, Moriya M, Kohda T, Honorat JA, Sugimoto T, Kumanogoh A, Kayama H, Takeda K, Sakoda S, and Nakatsuji Y (2011) The Lactic acid bacterium *Pediococcus acidilactici* suppresses autoimmune encephalomyelitis by inducing IL-10-producing regulatory T cells. *PLoS One* **6**, e27644.
- Takeda K and Okumura K (2007) Effects of a fermented milk drink containing *Lactobacillus casei* strain Shirota on the human NK cell activity. *J. Nutr.* **137**, 791S-793S.
- Takeda K, Suzuki T, Shimada SI, Shida K, Nanno M, and Okumura K (2006) Interleukin-12 is involved in the enhancement of human natural killer cell activity by *Lactobacillus casei* Shirota. *Clin. Exp. Immunol.* **46**, 109-115.
- Tsai YT, Cheng PC, and Pan TM (2010) Immunomodulating activity of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101 in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157H7-infected mice. *J. Agric. Food. Chem.* **58**, 11265-11272.
- Tsai YT, Cheng PC, and Tzu-Ming Pan TM (2012) The immunomodulatory effects of lactic acid bacteria for improving immune functions and benefits. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **96**, 853-862.
- Tsai YT, Cheng PC, Fan CK, and Pan TM (2008) Time-dependent persistence of enhanced immune response by a potential probiotic strain *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101. *Int. J. Food Microbiol.* **128**, 219-225.
- van Loveren H, Sanz Y, and Salminen S (2012) Health claims in Europe: Probiotics and prebiotics as case examples. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* **3**, 247-261.
- Wicken AJ and Knox KW (1976) Immunogenicity of cell wall and plasma membrane components of some oral lactic acid bacteria. *J. Dent. Res.* **55**, C34-C41.
- Won TJ, Kim B, Song DS, Lim YT, Oh ES, Lee DI, Park ES, Min H, Park SY, and Hwang KW (2011) Modulation of Th1/Th2 balance by *Lactobacillus* strains isolated from kimchi via stimulation of macrophage cell line J774A.1 *in vitro*. *J. Food Sci.* **76**, H55-H61.
- Yan F, Cao H, Cover TL, Washington MK, Shi Y, Liu L, Chaturvedi R, Peek RM Jr, Wilson KT, and Polk DB (2011) Colon-specific delivery of a probiotic-derived soluble protein ameliorates intestinal inflammation in mice through an EGFR-dependent mechanism. *J. Clin. Invest.* **121**, 2242-2253.
- Yan F, Cao H, Cover TL, Whitehead R, Washington MK, and Polk DB (2007) Soluble proteins produced by probiotic bacteria regulate intestinal epithelial cell survival and growth. *Gastroenterol.* **132**, 562-575.