

프로바이오틱스로써 유산균 사균체의 이해

김완재*

한국베름 주식회사 R&D 센터

(2018년 10월 20일 접수 · 2018년 11월 22일 수정 · 2018년 11월 25일 승인)

Understanding of Killed Lactic Acid Bacteria as a Probiotics

Wan-Jae Kim*

R&D Center, Korea BeRM Co., Ltd., Seoul 04326, Republic of Korea

(Received October 20, 2018 · Revised November 22, 2018 · Accepted November 25, 2018)

ABSTRACT

Keywords:

Heat-killed probiotics

Lactic acid bacteria

High-dose probiotics

Immuno-modulation

Health functional food

With the expansion of the probiotic market centered on lactic acid bacteria, various types of lactic acid bacteria are found in the market. Until the early 2000s, the development and release of the products mainly were focused on live bacteria, but now research on materials and cell components from probiotics are accelerated. In 2012, the market for lactic acid bacteria other than live ones in Japan exceeded 25% of live lactic acid bacteria market. In Korea, heat-killed probiotics are utilized not only in the food industry and pharmaceuticals but also in animal feed and cosmetics. Currently, abuse of the use of live probiotics have increased the incidence of side effects, and in serious cases led to death. This is the reason why “dead probiotics” that can be ingested safely in sufficient amount are attracting attention. Therefore, it is necessary for pharmacists to take a quick review and apply the drug since it is already widely applied in general food, health functional food, pharmaceuticals, animal feed, and cosmetics.

서 론

유산균을 중심으로 프로바이오틱스 시장의 확대와 함께 다양한 컨셉의 유산균 제품이 출시되고 있다. 2000년 초반까지 생균위주의 제품개발과 출시가 주를 이루었으나, 현재는 유산균 생산물질 및 유산균 사균체의 연구 및 제품 출시가 가속화되고 있다. 이미 2012년 일본 유산균 시장은 생균 이외의 유산균 제품이 25%를 넘어섰다. 국내에서 유산균 사균체가 알려지기 시작한 것은 락테올(Lacteol, 프랑스)이 정장제 및 지사제로 널리 쓰이면서 시작되었다고 볼 수 있다. *Lactobacillus acidophilus* 틴달화 동결건조물(*L. acidophilus* tyndalized)에 대한 인식이 널리 알려졌는데, 이때의 틴달화(Tyndallization, 간헐멸균법)는 포자균까지 사

멸시키는 멸균법의 한 종류였으나, 이제는 열처리 사균체 제조를 위해서도 쓰이고 있다. 국내에서도 의약품 중심이던 유산균 사균체 시장이 셀바이오텍(듀오락), 일동제약(gQ랩), 유유제약(장안에 화제) 등이 출시한 건강기능식품의 부원료로 이미 사용되고 있으며, 식품뿐만 아니라 사료 및 화장품 영역까지 적극 활용되고 있다. 일반적으로 유산균 시장리 발달한 일본산을 중심으로 유산균 사균체 원료가 유통되고 있으나 최근에는 네슬레의 유산균 사균체 시장 진입으로 유럽산 유산균 사균체가 유입되고 있다. 이러한 추세는 일본의 모리나가나, 유럽의 네슬레(Nestle, 스위스) 등이 유산균 사균체 시장에 진출에 시장을 확대하고 있으며, 단순 일반식품의 원료를 넘어서 건강기능식품분야에 활용하도록 많은 연구가 이루어지고 있다.

따라서, 익숙한 유산균을 이용한 새로운 유산균 사균체를 이용한 건강기능식품, 의약품 등의 신규시장의 확대를 인식하고, 지식전달의 최전선에 있는 약사들의 복용자에 대한 올바른 섭취와 활용을 유도해야겠다. 따라서 이번 논문에선 유산균 사균체에 대한 이해를 마련하고자 한다.

유산균 사균체 연구의 과거와 현재

1. 유산균 사균체 연구의 출발

유산균 사균체의 생리활성에 대한 과학적 연구는, 이미 100년 이상 지난 Eile Mechnikoff의 저서인 “prolongation of life: Optimistic studies”에서도 확인 할 수 있다. 그에 따르면 약 50~60도로 열처리한 *Bulgarian bacillus* 배양액을 이용한 실험에서 생균만을 섭취시킨 마우스와의 생육을 비교하여 더 좋은 결과를 얻었다는 Belonowsky 박사의 연구 결과를 인용하였다.¹⁾ 최근의 연구를 살펴보면 다양한 유산

균 사균체에 대한 비교 논문도 확인할 수 있다. 최근의 유산균의 연구는 생균을 장내에 정착시켜 유해균과의 경쟁을 유도하는 것에서 벗어나 유산균이 생성하는 다양한 다당체, 펩타이드, 핵산, 박테리오신 등의 물질을 확인하거나 유산균의 체성분을 그대로 이용하는 유산균 사균체 분야가 주목을 받고 있다. 이러한 연구흐름에 발맞춰 여러가지 유산균을 열처리하고 이사체가 장내환경 개선뿐만 아니라 면역활성에 미치는 영향을 확인하는 연구가 꾸준히 진행되고 있다.

유산균 및 대장균 등의 각 균주(菌株, strain)를 열처리하여 마우스의 비장세포에 처리하고 사균체에 의한 자극이 유도하는 사이토카인의 발현량을 조사한 연구에서, 유산균인 *Enterococcus faecalis*와 *Lactobacillus plantarum* 등이 IL-12, INF- γ 의 발현에 있어서 타 균주와 비교하여 현저히 높게 발현시킴을 확인 할 수 있었다. 이러한 열처리 유산균 사균체의 균체성분을 peptidoglycan 및 lipoteichoic acid

Table 1. Production of cytokines by murine splenocyte from ovalbumin (OVA)-sensitized mice when stimulated by OVA in the absence of heat-killed microorganisms

Microorganism	IL-12 (p70), pg/mL	IFN- γ , ng/mL	IL-4, pg/mL
Control	0 ± 0	0.4 ± 0.2	265 ± 75
<i>Lactobacillus plantarum</i> JCM 1149 ^T	39 ± 26	10.6 ± 3.4*	102 ± 53*
<i>L. plantarum</i> MEP170401	4,907 ± 1,160**	30.4 ± 7.0**	34 ± 11**
<i>L. plantarum</i> MEP170402	4,723 ± 971**	26.9 ± 10.4*	35 ± 6**
<i>L. plantarum</i> MEP170403	4,602 ± 869**	20.5 ± 4.5**	36 ± 11**
<i>L. plantarum</i> MEP170404	4,748 ± 950**	25.5 ± 9.3*	38 ± 9*
<i>L. plantarum</i> MEP170405	4,966 ± 965**	24.4 ± 4.0**	15 ± 11**
<i>L. plantarum</i> MEP170406	3,407 ± 602**	27.8 ± 7.3**	27 ± 9**
<i>Lactobacillus gasseri</i> JCM 1131 ^T	3,721 ± 1,338*	28.0 ± 5.2**	43 ± 14**
<i>L. gasseri</i> MEP170407	4,521 ± 1,101**	27.5 ± 5.8**	35 ± 4**
<i>L. gasseri</i> MEP170408	1,213 ± 405**	19.5 ± 6.3**	64 ± 20*
<i>L. gasseri</i> OLL2809	2,990 ± 617**	19.8 ± 6.5**	61 ± 19*
<i>L. gasseri</i> MEP170410	3,039 ± 627**	30.9 ± 3.6**	35 ± 9**
<i>L. gasseri</i> MEP170411	1,667 ± 285**	29.7 ± 6.8**	46 ± 14**
<i>L. gasseri</i> MEP170412	43 ± 77	7.8 ± 1.1**	140 ± 31
<i>L. gasseri</i> MEP170413	3,662 ± 582**	24.8 ± 3.0**	40 ± 12*
<i>L. gasseri</i> MEP170414	557 ± 147**	18.7 ± 5.4**	49 ± 15**
<i>Lactobacillus crispatus</i> JCM 1185 ^T	41 ± 47	2.7 ± 0.7**	169 ± 43
<i>L. crispatus</i> MEP170415	0 ± 0	0.8 ± 0.5	176 ± 62
<i>L. crispatus</i> MEP170416	0 ± 0	1.6 ± 0.4*	216 ± 80
<i>Lactobacillus amylovorus</i> JCM 1126 ^T	42 ± 292*	31.0 ± 6.8**	22 ± 6**
<i>L. amylovorus</i> MEP170417	0 ± 0	5.6 ± 1.2**	259 ± 156
<i>L. amylovorus</i> MEP170418	0 ± 0	4.7 ± 2.4*	196 ± 57
<i>Lactobacillus brevis</i> MEP170419	0 ± 0	2.0 ± 1.1	224 ± 57
<i>Lactobacillus casei</i> MEP170420	0 ± 0	4.0 ± 1.7*	181 ± 81
<i>Bifidobacterium bifidum</i> JCM 1255 ^T	0 ± 0	0.2 ± 0.2	200 ± 69
<i>Bifidobacterium longum</i> JCM 1217 ^T	0 ± 0	1.8 ± 0.7*	362 ± 110
<i>Lactococcus lactis</i> JCM 1248 ^T	1,032 ± 234**	17.1 ± 2.4**	34 ± 16**
<i>Enterococcus faecalis</i> IFO 3971	4,816 ± 1,324**	31.1 ± 7.4**	47 ± 29**
<i>Bacteroides vulgatus</i> JCM 5826 ^T	43 ± 50	1.8 ± 0.7*	235 ± 60
<i>Escherichia coli</i> JCM 1649 ^T	225 ± 120*	18.0 ± 1.6**	46 ± 21**

*P < 0.05; **P < 0.01.

을 중심으로 분석한 결과 균주에 따라 체성분이 상당부분 상이하며, 그림에도 불구하고 면역세포에의 영향은 조사된 균체성분에 따른 패턴과 유의적 차이는 확인하지 못하였다.²⁾

상기 조사된 균체성분 이외에, β -glucan, mannose, nucleic acid 등이 TNF- α , IL-12 등의 발현이나 phagocytosis를 활성화하는 것으로 알려져 있다.³⁻⁵⁾ 따라서 사균체는 생균과 같이 장내에 정착하여 활성을 나타내는 것이 아니라, 면역세포와 직접적인 접촉에 의하여 그 생리활성이 유도된다. 이러한 직접적인 면역세포와의 교류는 거의 대부분이 소장내의 페이어반(Peyer's patch)에서 일어난다. 특히 페이어반의 M 세포(microfold cell)를 통해 미생물의 균체성분은 면역세포와의 만날 수 있다. M 세포의 Toll like receptor를 통한 선택적인 통과는 미생물의 생사와 관계없이 균체성분의 인식을 통한 과정임을 알 수 있다. 페이어반 통과 전에도 수상세포는 소장내의 균총 및 각종 성분을 상황을 파악하여 각각의 면역세포에 정보를 제공할 수 있다. M 세포를 통과한 균체는 대식세포의 식균작용에 의해 용해 이용되며 이로써 구체적인 균체의 정보를 사이토카인의 발현으로 T 세포에 자극을 준다. 미감작 T세포의 Th1과 Th2 세포로의 분화에는 이러한 미생물 균체의 자극에 의한 사이토카인의 발현이 중요한 역할을 하며, 이대의 대표적인 사이토카인이 인터류킨(IL, interleukin)-12이다.

최근의 연구 결과에 따르면, 이러한 미생물 들의 체내 유입과 T 세포의 분화는 더욱 많은 연관성이 확인되고 있으며, Th1와 Th2의 분화뿐만 아니라 Th17 및 T reg의 분화에도 중요한 영향을 미치고 있는 것이 보고되고 있다.^{6,7)} 이는 염증발생이나 면역저하 등 다양한 환경적 요인에 따라 선택적으로 일어나는 것으로, 일반적인 일방향성, 즉 면역항진 또는 면역억제 등의 작용과는 달리 양방향성을 나타내는 독특한 생리활성을 보이고 있어, 자기면역질환이나 감염 등을 조절하는 면역조절제(immuno-modulator)로서의 생물체제이다.

유산균 사균체의 주요활성

1. 항염작용

면역조절 작용을 나타내는 유산균 사균체는 특히 현대 질병의 가장 많은 부분을 차지하는 자가면역질환의 원인인 만성염증의 예방과 치료에 팔목할 만한 효과를 보인다. 아토피 피부염,^{8,9)} 궤양성 대장염 등의 염증성 장질환^{10,11)} 등에서 열처리 유산균 사균체의 섭취시, 농도 의존적으로 염증성 사이토카인의 발현을 억제하여, 세포탈락과 조직괴사를 막고, 부종을 완화하며, 조직회복을 촉진하는 것이 확인되었다.

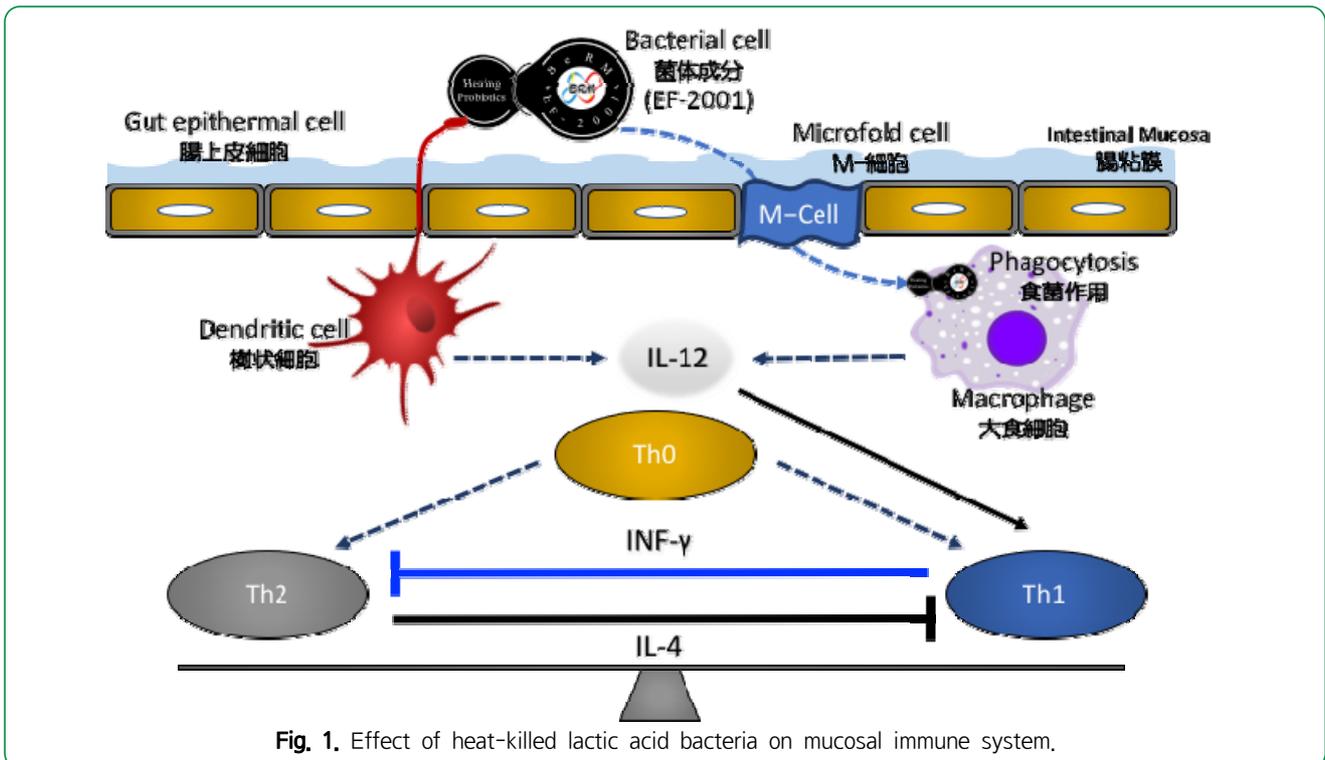


Fig. 1. Effect of heat-killed lactic acid bacteria on mucosal immune system.

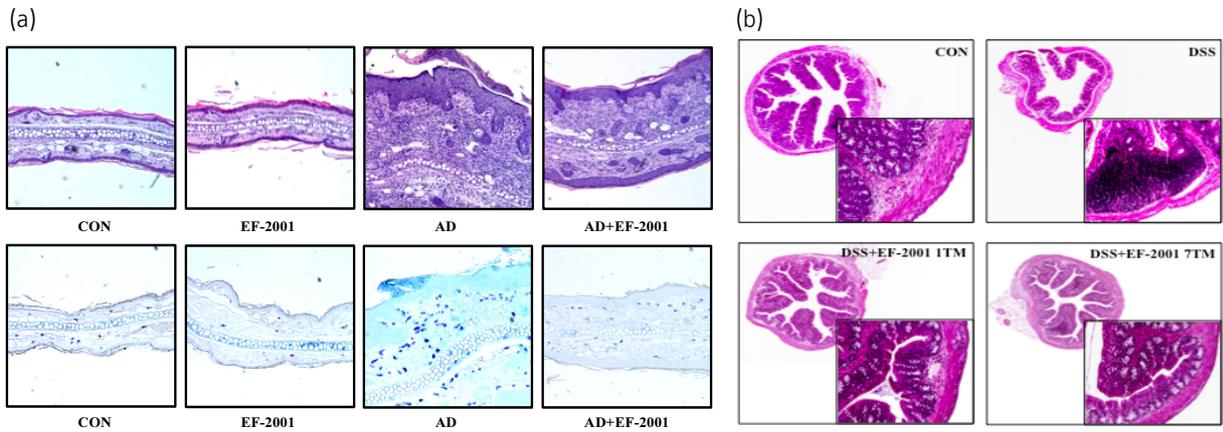


Fig. 2. Anti-inflammatory effect of *heat-killed Enterococcus faecalis* EF-2001 by oral intake. a) Representative photomicrographs of ear sections stained with hematoxylin or toluidine blue, b) Effect of EF-2001 on the histopathological outcomes of DNBS-induced colitis. The section of colon sampled from sacrificed mice was stained with hematoxylin and eosin (H & E). Representative tissue section of mice where DNBS (induced colitis by dinitrobenzene sulfonic acid, DNBS), EF-2001 1TM (EF-2001 1TM administration + induced colitis by DNBS), EF-2001 7TM (EF-2001 7TM administration + induced colitis by DNBS) with $\times 10$ and $\times 100$ objective.

2. 감염억제작용

일반적인 생균의 항균 메커니즘은 대부분이 균이 생산하는 박테리오킨의 의한 감염원의 세포사의 유도로 이루어진다. 사균체의 경우에는 이미 죽은 상태이므로 새롭게 물질을 생산하는 것은 불가능하기에 직접적인 세포독성에 의한 감염원의 제거는 기대하기 어렵다. 유산균 사균체는 면역세포의 식균작용이나 염증성 사이토카인을 면역세포로부터 유도하여 감염원을 제거하게 도와준다. 또

한 감염원과 결합하여 비활성화하여 체외의 배출을 돕기도 한다. 이러한 특성은 박테리아뿐만 아니라 바이러스, 진균 등 다양한 형태의 미생물에 적용되며 상당히 효과적이다.¹²⁻¹⁴⁾

따라서 무분별하고 무사안일주의적 항생제의 오남용에 효과적인 대체제로 각광을 받고 있으며, 부득이한 항생제 처리 후 장내균총의 정상화 유도 및 2차 감염의 방지 등의 효과를 기대할 수 있다. 따라서 항생제와의 복합처방이 추

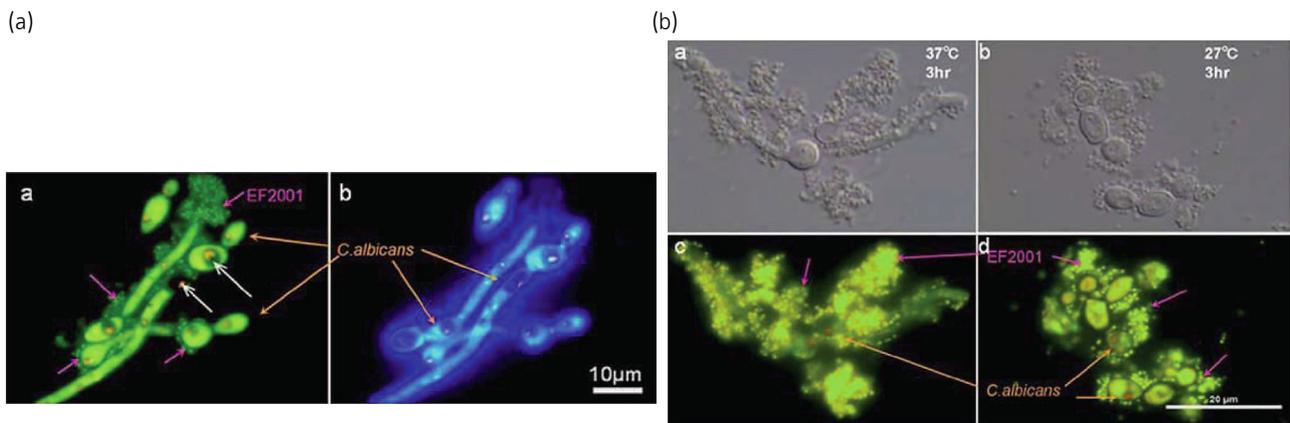


Fig. 3. Vital staining of *C. albicans* by FUN1. A; *C. albicans* was cultured with EF-2001 at 37°C for 3 h and stained by FUN1 (a) and Calcofluor White M2R (b). Hyphal forms of *C. albicans* (stained with FUN1 and Calcofluor White) were surrounded by small green particles of EF-2001 (stained with only FUN1). White arrows indicates the accumulated red crystals of FUN1. B; *C. albicans* was cultured with EF2001 at 37°C (a, c) or 27°C (b, d) for 3 h, stained by FUN1 and observed by differential interference contrast microscope (a, b) and fluorescent microscope (c, d). Both hyphal and yeast forms of *C. albicans* were surrounded by EF-2001 and were viable.

천되며, 항생제 대체를 위하여 보다 진전된 연구가 필요하겠

3. 항암작용

유산균에 의한 항암 및 항종양의 경우에도 상기 서술한 항감염의 기작과 같이 직접적인 세포독성에 의한 세포사의 유도보다 면역세포의 암억제능을 높이는 것으로 파악된다. 유산균의 균체 성분 중의 peptidoglycan, lipoteichoic acid, β -glucan, mannose, nucleic acid 등이 $TNF\alpha$ 등 사이토카인의 발현이나 macrophage나 NK 세포를 활성화하여 식균작용 및 세포사멸을 유도한다. 이는 특정 한가지 성분의 영향보다도 각 성분의 시너지 효과로 유추할 수 있다. 또한 이는 육종이나 골종에 관계없이 활성을 보이고 있다.¹⁵⁾

4. 면역조절(Immuno-modulation)작용

일반적인 면역조절제는 면역의 증강 또는 억제의 편향된 활성을 이용한다. 유산균의 경우에는 조건에 따라 증강과 억제를 모두 보이는 양방향성이다. 감염에 대처하기 위한 국소적이고 필수적인 염증반응이 아닌, 지속적인 염증반응의 만성화를 방지하거나 만성화된 염증반응을 완화하는 것이 가장 큰 장점이라 할 수 있다. 연구결과에서도 Lipopolysaccharide (LPS)를 과량 처리하여 대식세포에 강한 염증반응을 유도한 상태에서 열처리 유산균 사균체 EF-2001을 처리하자, 농도 의존적으로 염증반응을 억제하라고, LPS를 처리하지 않은 대식세포에서의 EF-2001을 처리는 면역증강이 유도하는 것이 확인되었다. 이는 생체의 상태에 따라 항상성을 유지해주는 Immuno-modulator로써

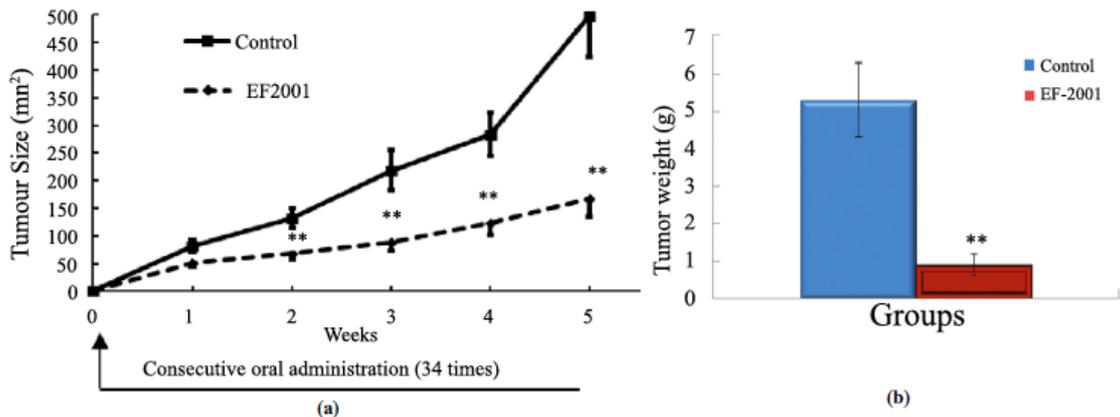


Fig. 4. Tumor growth-inhibitory effect of EF-2001 in Ehrlich cancer cells-bearing mice. Changes in the size of the tumor (A). Changes in the tumor weight (B). After tumor implantation, we measured the weight of the fifth week of the tumor of each group. The results represent \pm a S.D. *Significantly different from the control group ($p < 0.05$). **Significantly different from the control group ($p < 0.01$).

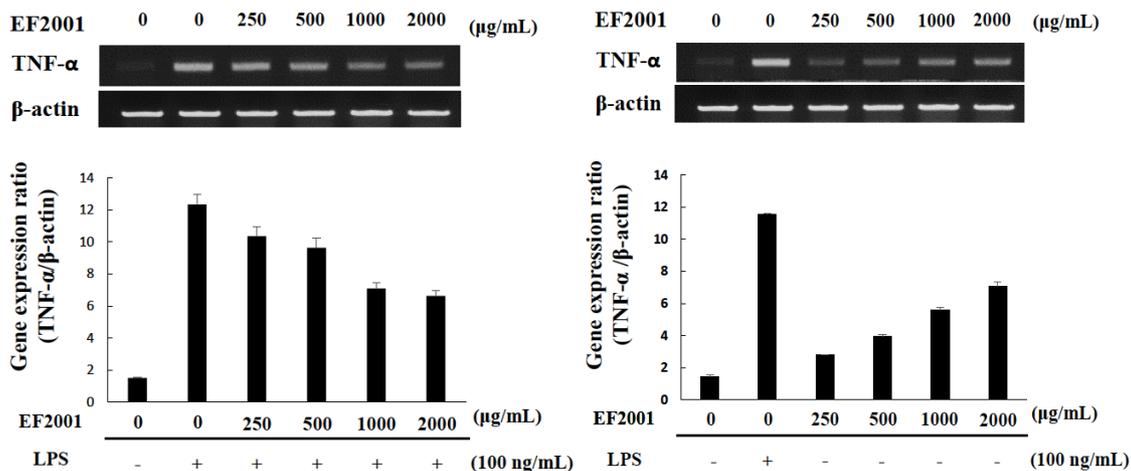


Fig. 5. Immune modulatory effect in expression of $TNF\alpha$ by treatment of heat-killed lactic acid bacteria *Enterococcus faecalis* EF-2001 in macrophage

의 기능을 나타내는 수행하고 있음을 알 수 있다.¹⁶⁾

5. 정상작용

살아있는 유산균은 장에 정착하고 개체 수를 늘리고 유해균과 경쟁하여 장내균총을 정상화한다고 알려져 있다. 사균은 장내에 존재하던 유익균의 먹이가 되어 유익균을 prebiotics의 역할도 할 수 있다. 항생제 투여로 장내 세균이 사멸하면 *Clostridium difficile*과 항생제 내성균 등의 감염의 위험이 증가하는데, 사균체의 섭취는 유익 Bifidobacteria, Lactobacilli 등의 유익균의 빠른 생성 및 증식과 Enterobacteriaceae 등의 유해균의 증식억제 및 성장억제를 유도하여 장내균총을 정상화 시킨다.¹⁷⁾ 이는 사균체의 항염작용이 더해져 상당한 시너지 효과를 보이게 된다. 이러한 복합 작용에 기인하여 유산균 사균체는 단독으로도 synbiotics로 불리어지기도 한다.

6. 기타작용

열처리 유산균 사균체를 활용하여 연구된 분야 중에는 항암치료와 관련하여 방사선 치료시의 보호효과도 있다. 이는 방사선 조사 전에 사균체를 섭취하고 생존율, 림파구 수 및 NK세포 활성화도 등이 조사되었다. 그 결과 생존율이 유의적으로 상승하였고 림파구 수와 NK세포의 활성화도가 방

사선 조사 단독 시행한 군에 비해 증가하였다.¹⁸⁾ 근위축의 예방과 치료에도 강한 활성을 보이며, 과산화 수소수로 유도한 근육세포의 사멸을 막는 것이 확인되었다.¹⁹⁾ 이는 유산균종에 따라 틀리지만 강력한 항산화 및 항염작용에 의한 결과로 보여 진다.

7. 사균체 균체수의 측정

유산균 사균체의 경우 이미 죽은 개체이므로, 일반적인 도말법에 의한 colony forming unit을 세는 방법은 적용할 수 없다. 초기에는 항원항체 반응을 이용한 면역형광법이 적용되었으나 오차범위가 컸다. 현재는 이러한 오차를 줄이고자 Polymerase chain reaction (PCR)법을 이용한 파악이 이루어지고 있다. Real-time PCR은 찾고자 하는 유전자의 정량에 쓰이는 가장 정확한 측정법의 하나로 실시간으로 유전자량을 측정하여 유전자 증폭시에 과도한 증폭으로 시료간 측정값이 동일해지는 오류를 효과적으로 차단한다.^{20,21)} 따라서 정확한 균체수를 구할 수 있다. 민감도와 특이도가 높아 정밀한 분석이 가능하며, 검출 한계가 이론상 1 cfu/25 g인 매우 민감한 방법으로 검출 가능하다. 또한, 실험 tube 안에서 상태를 분석하므로 오염율이 낮고, 형광 검출법으로 짧은 시간 안에 결과 분석이 가능한 장점을 가지고 있다.²²⁻²⁴⁾

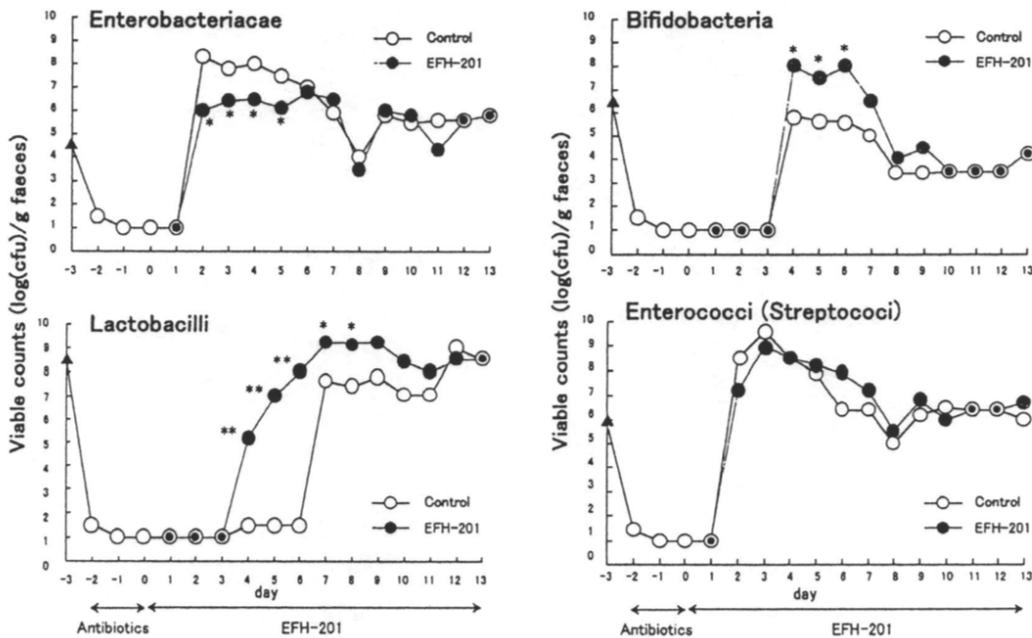


Fig. 6. The effect of *Enterococcus faecalis* EF-2001 inrestoring intestinal flora lost through the administration of antibiotics. Lactobacilli (beneficial bacteria) re-emerged earlier and in greater number in the Ef-2001 group. Bifidobacteria (beneficial bacteria) also re-emerged in greater numbers. Conversely, *Enterobacteriaceae coilfrom* (harmful bacteria) re-emerged in lesser numbers.

고농도 유산균 사균체 현황

1. 고단위 유산균(High Dose Probiotics)의 사용

Point institute의 고농도 유산균 임상연구에 대한 보고서에 의하면, 임상시험을 통한 염증성 장질환(IBS)에 유효한 유산균의 섭취량은 균종 및 섭취 기간은 상이하나, 4천 5백억에서 10조 개($4.5 \times 10^{11} \sim 10 \times 10^{13}$)로 파악되고 있다.²⁵⁾ 1회 섭취 당, $1 \sim 100$ 억($10 \times 10^8 \sim 10 \times 10^{10}$) cfu로 규정되어 있는 현재의 프로바이오틱스 제품 규격과 비교해보면 상당한 차이를 보인다. 건강기능식품으로써 프로바이오틱스는 기능성은 장 건강에 한정되어 있고 질병의 치료에 대한 범위는 포함하지 않는다. 따라서 질병치료 목적으로써 그 섭취량이 다르게 정의되어야 한다. 인간의 장 속에는 약 38조개 정도의 미생물이 살고 있는 것으로 Weizmann Institute of Science는 보고하였다.²⁶⁾ 이전의 100조개 이상으로 알려져 있던 것에 비하면 적은 양이지만, 건강기능식품 프로바이오틱스 규격과 비교하면 몇 백배 이상 차이가 난다. 이러한 미생물의 고밀도 서식지에 대응하기 위해서는 고농도의 유산균 섭취가 필수적이다.

또한, 소장 내의 면역기관인 페이어반(Peyer's patch)의 Microfold cell (M-cell) 통해, 유산균이 유입되어 대식세포나 수상세포를 자극하여 IL-12 등의 cytokine의 분비와 T 세포의 분화를 유도하는데, 나이가 들면서 Peyer's patch의 숫자는 줄어 들게 된다.²⁶⁾ 따라서 유산균과 면역세포의 접촉기회가 상당부분 소실되고 만다.

따라서, 장내의 서식 미생물과의 비율 및 면역세포 활성화 고려하면, 상기의 Point institute의 보고와 같이 조 단위(10×10^{12})의 유산균의 섭취가 필요한 실정이다. 이런 이유로, 고농도의 제품개발이 가능한 유산균 사균체의 사용이 늘어 가고 있다.

현재 가장 고농도 유산균이 연구와 생산이 활발한 곳은 일본이다. 유산균 사균체 원료생산에 있어서는 건조중량 그램 당 7조 5천억 개(7.5×10^{12}) 함유가 현재 최고 농도로 니혼베르무(EF-2001, Nihon Berumu Co., Ltd. Tokyo, Japan, <http://www.brm.co.jp/eng/>)사가 생산하고 있고, 국내에서는 한국베르(주)이 일본에서의 기술이전 받아 유리하게 생산이 가능하다. 일본의 조단위 유산균 생산기업 중에 상위 3개사가 모두 *E. faecalis* 균주를 이용하여 생산하고 있다.

고 찰

유산균은 살아있어야만 생리활성이 있다는 생각은 2000년대에 이루어진 다양한 유산균 사균체의 연구에 의하여

학계와 산업계에서 퇴출되어지고 있다. 2009년, Nutrition Reviews의 Probiotic microbes: do they need to be alive to be beneficial? 에서 “프로바이오틱스 안전한 이용을 위해 될 수 있으면 죽인균(Slain bacteria), 즉 사균체(Microbial Carcasses)를 이용할 것”을 제안하면서, 프로바이오틱스는 관습적으로 살아있는 균에만 국한되고 있다고 지적하고 프로바이오틱스의 영역을 사균체와 미생물 유래물질까지 확대시켰다.²⁸⁾

외국에 비해 유산균 사균체 연구가 부진했던 국내의 상황은, 2015년에 한국식품연구소가 개발한 된장유래의 면역증진 기능성 유산균을, 열처리하여 사균체화하여 사용하여도 면역과 정장에 관련된 효과는 같거나 더 높았다고 보고함으로써 더욱 활발히 연구되어지고 있다.

현재의 생균 위주의 프로바이오틱스의 사용에 대한 오남용으로 부작용에 사례가 늘고 있고, 심각한 경우 사망사례까지 보고되고 있다. 안전하게 충분한 양을 섭취할 수 있는 유산균 사균체가 주목받는 이유도 그러하다. 친숙한 느낌이지만 특이점이 많은 유산균 사균체는 생균과 비교하여 이해하기보다는 천연물 원료로 인식하고 접근하는 것도 좋은 이해 방법이라 할 수 있겠다. 일반식품, 건강기능식품, 제약, 사료, 화장품 등에 다양하게 적용범위가 넓히고 있어 빠른 이해와 응용이 복용 및 사용지도를 해야만 하는 약사에게 무엇보다 필요한 시기라 할 수 있겠다.

참고문헌

- 1) Metchnikoff E. Prolongation of life: Optimistic studies, New York & London, G.P. Putnam's Sons 1908;170-171.
- 2) Sashihara T, Sueki N, Ikegami S, An Analysis of the effectiveness of heat-killed lactic acid bacteria in alleviating allergic diseases. J Dairy Sci 2006; 89(8):2846-55.
- 3) Li J, Li F, Xing JJ, Effects of β -glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, and immunological and somatotrophic responses of pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. J Anim Sci 2006;84:2374-81.
- 4) Geiss-Liebisch S, Rooijackers SH, Beczala A, et al. Secondary cell wall polymers of *Enterococcus faecalis* are critical for resistance to complement activation via mannose-binding lectin. J Biol Chem 2012;287(45):37769-77.
- 5) Nakase J, Ukawa Y, Takemoto S, et al. RNA and a cell wall component of *Enterococcus faecalis* IC-1 are required for phagocytosis and interleukin 12 production by the mouse macrophage cell line J774.1. Biosci Biotechnol Biochem 2017;81(6):1099-1105.

- 6) Xie J, Nie S, Yu Q, et al. Lactobacillus plantarum NCU116 Attenuates Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression and Regulates Th17/Treg Cell Immune Responses in Mice. *J Agric Food Chem* 2016;64(6):1291-7.
- 7) López P, González-Rodríguez I, Gueimonde M, et al. Immune response to Bifidobacterium bifidum strains support Treg/Th17 plasticity. *PLoS One* 2011;6(9):e24776.
- 8) Choi EJ, Iwasa M, Han KI, et al. Heat-Killed Enterococcus faecalis EF-2001 Ameliorates Atopic Dermatitis in a Murine Model. *Nutrients* 2016;8(3):146.
- 9) Choi EJ, Iwasa M, Han KI, et al. Effect of *Enterococcus faecalis* EF-2001 on experimentally induced atopic eczema in mice. *Food Sci Biotechnol* 2016;25(4):1087-93.
- 10) Choi EJ, Kim EK, Yun YB, et al. Heat-killed *Enterococcus faecalis* EF-2001 suppresses inflammatory bowel disease in vivo. In: The 9th Asian Conference on Lactic Acid Bacteria, Gwangju, Korea, July 3, 2017.
- 11) Choi YJ, Kim WJ, Iwasa H, et al. *Enterococcus faecalis* EF-2001: a potent immunomodulator and inhibitor of inflammatory ulcerative colitis *in vivo*. In: The International Conference and Exhibition on Nutraceuticals & Functional Foods, Gunsan, Korea, October 22, 2017.
- 12) Hara K, Nakao K, Kawaguchi S. Effect of heat-killed lactic acid bacteria *Enterococcus faecalis* on Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infected mice. *J New Rem & Clin* 2018;67(3):32-43.
- 13) Chen MF, Weng KF, Huang SY, et al. Pretreatment with a heat-killed probiotic modulates monocyte chemoattractant protein-1 and reduces the pathogenicity of influenza and enterovirus 71 infections. *Mucosal Immunol* 2017;10(1):215-27.
- 14) Ishijima SA, Hayama K, Ninomiya K, et al. Protection of mice from oral Candidiasis by heat-killed *Enterococcus faecalis*, possibly through its direct binding to *Candida albicans*. *Med Mycol J* 2014;55(1):E9-E19.
- 15) Gu YH, Choi H, Yamashita T, et al. Pharmaceutical Production of Anti-tumor and Immune-potentiating *Enterococcus faecalis*-2001 β -glucans: Enhanced Activity of Macrophage and Lymphocytes in Tumor-implanted Mice. *Curr Pharm Biotechnol* 2017;18(8):653-61.
- 16) KIM WJ, KIM EJ, KIM EK, et al. Heat-killed lactic acid bacteria, EF-2001 modulate immune response as a probiotics. In: The Korean association of immunologists conference in spring, Jeju, Korea, April 13, 2018.
- 17) Simohasi H, Iwasa T, Yanagizawa H, et al. Feeding effect of heat-killed *Enterococcus faecalis* EF-2001 cells on an intravenous infection of *Escherichia coli* and food footpad edema induced by it in mice. *Medicine and biology* 2001;144(1):1-6.
- 18) Gu Y, Iwasa H, Itokawa Y, et al. Protective Effects of *Enterococcus Faecalis* 2001 (EF 2001) against Radiation-induced Leukocytes Damage in Mice. *Medicine and biology* 2007; 151(9):289-294.
- 19) Kim WJ, Iwasa M, Iwasa H, et al. Heat-killed *Enterococcus faecalis* EF-2001 improve muscle recovery from myoatrophy by inhibition of ROS. In: international meeting of the microbiological society of Korea. Ilsan, Korea, December 2, 2017.
- 20) Catarame TMG, O'Hanlon KA, McDowell D, et al. Comparison of a real-time polymerase chain reaction assay with a culture method for the detection of *Salmonella* in retail meat samples. *J Food Safe* 2006;26:1-15.
- 21) Malorny B, Paccassoni E, Fach P, et al. Diagnostic real-time PCR for detection of *Salmonella* in food. *Appl Environ Microbiol* 2004;70:7046-52.
- 22) Bohaychuk VM, Gensler GE, McFall ME, et al. A real-time PCR assay for the detection of *Salmonella* in a wide variety of food and food animal matrices. *J Food Prot* 2007;70:1080-87.
- 23) Hein I, Flekna G, Krassnig M, et al. Real-time PCR for the detection of *Salmonella* spp. In food: An alternative approach to a conventional PCR system suggested by the Food-PCR project. *J Microbiol Methods* 2006;66:538-47.
- 24) Krascenicsová K, Píknová L, Kaclíková E, et al. Detection of *Salmonella enteric* in food using two-step enrichment and real-time PCR. *Lett Appl Microbiol* 2008;46:483-87.
- 25) Guilliams T. Technical report: An emerging trend of high dose probiotic use in clinical practice, Point institute 2011:1-8.
- 26) Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS One* 2016; 14(8):e1002533.
- 27) Cornes JS. Number, size, and distribution of Peyer's patches in the human small intestine, Part I *The development of Peyer's patches*. *Gut* 1965;6(3):225-29.
- 28) Kataria J, Li N, Wynn JL, et al. Probiotic microbes: do they need to be alive to be beneficial? *Nutr Rev* 2009;67(9):546-50.