

*Lactobacillus acidophilus*의 bile salt deconjugation에 관한 연구

안영태 · 임광세 · 백영진 · 김현욱*
(주)한국야쿠르트 중앙연구소 · 서울대학교 농업생명과학대학*

I. 서론

관상동맥경화에 의한 순환기계 질병은 40세 이후의 인구집단에게 가장 위협적인 성인병으로서, 의학계와 영양학계의 중요한 연구과제이며, 우리나라에서도 중요한 성인병으로 인식되고 있다(Kim, 1995; Lee, 1997). 미국인 사망률의 반은 cholesterol이 관상동맥벽에 축적되어 혈류를 방해하고 심장마비 등을 일으키는 동맥경화증(atherosclerosis)에 의하여 발생되고 있으며, 이는 혈액내의 과다한 양의 low density lipoprotein(LDL)에 의하여 발생한다(Brown과 Goldstein, 1984).

최근 동물성 식품의 과다 섭취로 포화지방산과 cholesterol에 의한 혈중 cholesterol 수준의 증가가 동맥경화증의 주원인으로 인정되고 있다. 혈중 cholesterol 수준을 낮추기 위해서는 체내 cholesterol 생합성의 억제, 혈중 cholesterol 수준을 저하시키는 식품 섭취 등의 방법이 있으며, 따라서 저 cholesterol 축산식품의 개발, 혈중 cholesterol 수준을 저하시키는 기능성 축산 발효식품의 개발 등에 대한 관심이 증가하고 있다. 현재 혈중 cholesterol 수준을 저하시키는 발효유와 젖산균 특히, *Lactobacillus acidophilus* 섭취가 사람(Ahn 등, 2000; Harrison과 Peat, 1975), 닭(Tortuero 등, 1975), 쥐(Grunewald, 1982), 그리고 돼지(Danielosn 등, 1989)에서 혈중 cholesterol 수준을 감소시킨다는 연구결과들이 많이 보고되고 있다. 그러나 정확한 기작은 아직 밝혀지고 있지 않다.

이 글에서는 최근에 젖산균의 혈중 cholesterol 수준 저하 기작으로 많이 연구되고 있는 젖산균의 복합담즙산 분해에 대해 알아보려고 한다.

II. 본론

1. 담즙산

1) 담즙산의 종류

담즙산은 cholesterol의 수용성 대사산물일 뿐만 아니라 다양한 물리적 기능을 가진 물질이다. 담즙산은 glycine 또는 taurine과 함께 N-acyl conjugates를 형성하여 담즙으로 분비되며, 체내에서 cholesterol을 제거하는 주경로로서(Turley와 Dietschy, 1988), 체내 cholesterol 대사를 조절하는 중요한 수단이다(Chen 등, 1995). 장내에서 담즙산은 지방 유화를 증진시키고, 지방산, monoglycerides, cholesterol, 그리고 다른 지방의 흡수를 돕는다. 정상인의 담즙산은 41% cholate, 39% chenodeoxycholate, 15% deoxycholate, 4% ursodeoxycholate, 1% lithocholate로 구성되어 있으며, 태아기에는 담즙산의 대부분이 taurine 복합체로 분비되지만, 점차로 glycine 복합체가 증가하여(Fig. 1), 3세 이후 성인에서는 주로 glycine 복합체로 분비되어, glycine과 taurine 복합체의 비율이 2.2~3 대 1 정도가 되는 것으로 보고되고 있다(Mallory 등, 1973).

장내 미생물들은 복합담즙산의 amide 결합을 가수분해하여 유리 담즙산을 생성하고, 7 carbon hydroxyl group을 제거하여 2차 담즙산을 생성하며, 또 hydroxyl groups를 산화·환원하여 다양한 형태의 담즙산으로 전환시킬 수 있

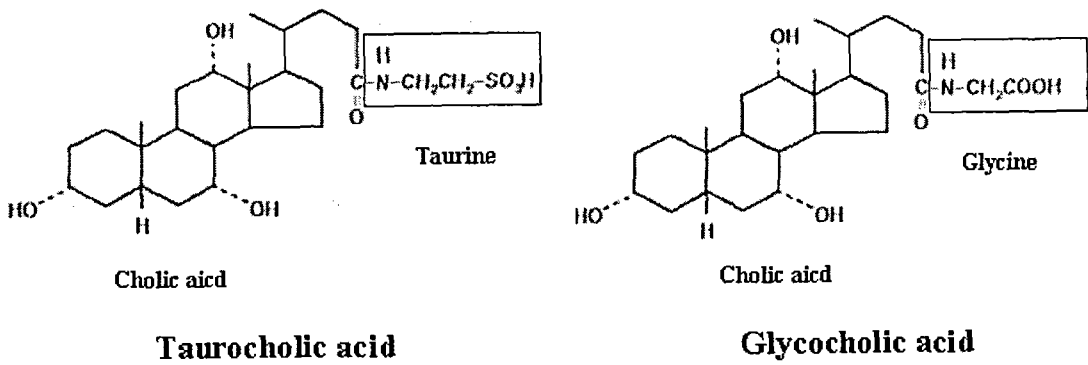


Fig. 1. Structure of taurocholic acid and glycocholic acid.

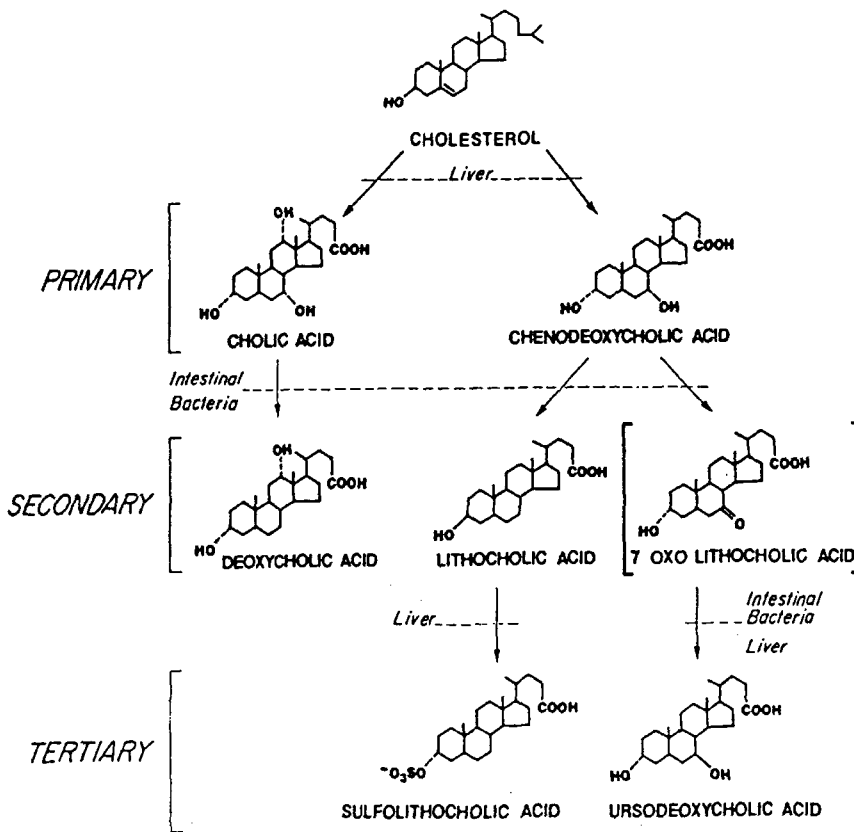


Fig. 2. Major primary, secondary, and tertiary bile salts of humans with sites of synthesis and metabolism. (Carey and Cahalane, 1988)

다(Macdonald 등, 1983). 이러한 장내 미생물들에 의한 중요한 담즙산 전환작용은 복합담즙산의 가수분해이고 그 다음은 cholic acid(3 α , 7 α , 12 α -trihydroxycholanolic acid)를 deoxycholic acid(3 α , 12 α -dihydroxycholanolic acid)로, chenodeoxycholic acid(3 α , 7 α -dihydroxycholanolic acid)를 lithocholic acid(3-monohydroxycholanolic acid)로 전환시키는 작용이다(Fig. 2). 이밖에도 장내 미생물에 의한 담즙산 분해산물로서 3- β -hydroxy-5- β -cholanolic, 3- α

Table 1. Biliary bile salt composition in healthy humans(Carey and Cahalane, 1988).

Trivial name	Bile salt Systematic name	Percent in bile ^a		Percent of total	
		TC ^b	GC ^c	S ^d	G ^e
Common ^f					
Cholate	3 α ,7 α ,12 α -Trihydroxy-5 β -cholanoate	12	23	0.1	0.1
Chenodeoxycholate	3 α ,7 α -Dihydroxy-5 β -cholanoate	12	23	0.2	0.1
Deoxycholate	3 α ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholanoate	8	16	n.d. ^g	n.d.
Ursodeoxycholate	3 α ,7 β -Dihydroxy-5 β -cholanoate	tr ^h →2	tr→4	n.d.	n.d.
Lithocholate	3 α -Monohydroxy-5 β -cholanoate	1→2	3→4	60-80	tr
Uncommon					
Isocheno-Deoxycholate	3 β ,7 α -Dihydroxy-5 β -cholanoate	tr→1.0		n.d.	n.d.
Isoodeoxycholate	3 β ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholanoate	tr→0.3		n.d.	n.d.
7-Oxo-chenodeoxycholate	3 α -Monohydroxy,7-oxo-5 β -cholanoate	tr→0.6		n.d.	n.d.
12-Oxo-deoxycholate	3 α -Monohydroxy,12-oxo-5 β -cholanoate	tr→1.7		n.d.	n.d.
7-Oxo-cholate	3 α ,12 α -Dihydroxy,7-oxo-5 β -cholanoate	tr→0.8		n.d.	n.d.
12-Oxo-cholate	3 α ,7 α -Dihydroxy,12-oxo-5 β -cholanoate	tr→0.8		n.d.	n.d.
3-Oxo-deoxycholate	12 α -Monohydroxy-3-oxo-5 β -cholanoate	tr→0.05		n.d.	n.d.
3-Oxo-chenodeoxycholate	7 α -Monohydroxy-3-oxo-5 β -cholanoate	tr→0.1		n.d.	n.d.
Ursocholate	3 α ,7 β ,12 α -Trihydroxy-5 β -cholanoate		i	n.d.	n.d.
	3 β -Monohydroxy- Δ -5-cholanoate	tr		n.d.	n.d.

^aUnconjugated bile salts comprise 0.1 to 0.4% of total biliary bile salt, ^bTC= Taurine conjugated, ^cGC= Glycine conjugated, ^dS= Sulfated, ^eG= Glucuronidated, ^fComprise 92 to 99% of total biliary bile salts, ^gn.d.=not determined, ^htr= trace, i: Infrequent.

-hydroxy-12-oxo-5- β -cholanic, 그리고 3- β -12- α -dihydroxy-5- β -cholanic acid가 사람의 분변에서 발견되고 있다(Lewis와 Gorbach, 1972). 건강한 성인의 담즙산의 조성은 Table 1과 같다.

2) 담즙산의 장간순환

지방친화성의 유리 담즙산은 소장 전역에서 수동확산에 의해 흡수되지만, 친수성인 복합담즙산은 회장 하부로 부터 능동수송에 의해 재흡수되어 혈장알부민과 결합하여, 문맥을 거쳐 간장으로 돌아오고, 간장의 담즙산 pool로 들어간다(Salter 등, 1996). 담즙산의 97%가 이 경로로 흡수되는데 이 회로를 담즙산의 장간순환(enterohepatic circulation)이라 한다. 대부분의 담즙산은 회장에서 복합담즙산으로 재흡수되고, 유리 담즙산은 소장에서 잘 흡수

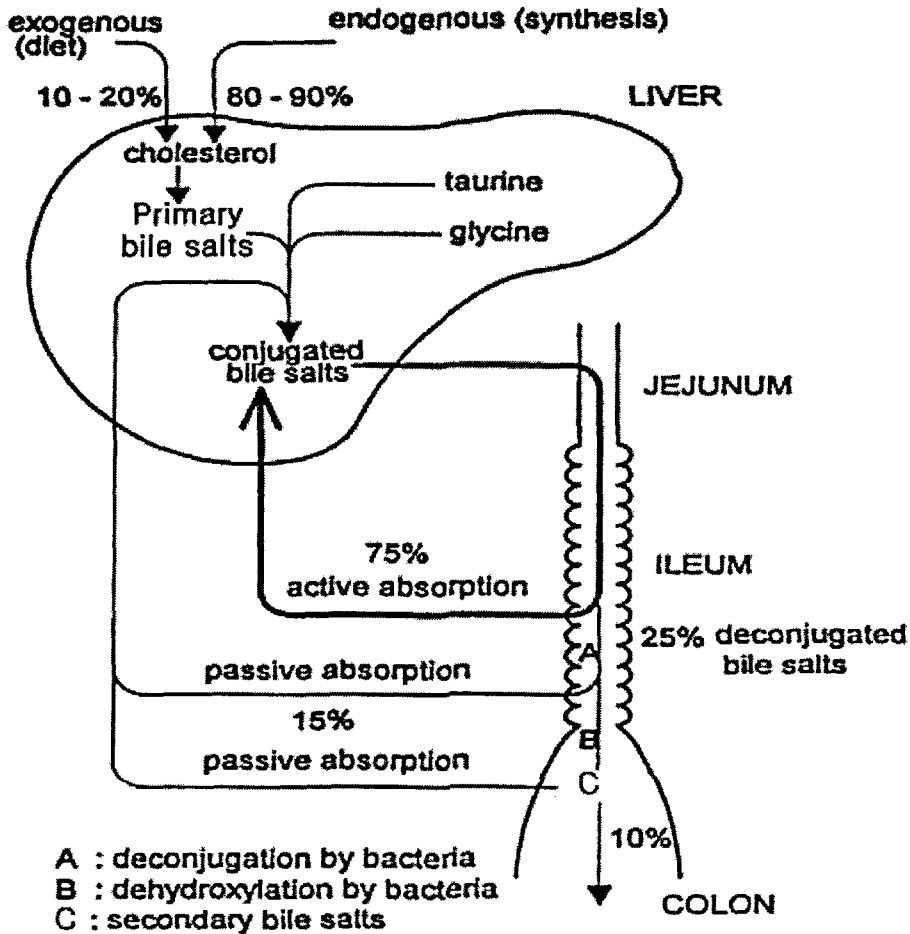


Fig. 3. Enterohepatic circulation of bile salts. Daily bile salt fluxes are given as percentages of the bile salt pool.(De Smet et al., 1994)

되지 않으며, 특히 복합담즙산보다 더 빠르게 장관으로부터 배출되는 것으로 알려져 있다(Chikai 등, 1987). 이것은 담즙산의 용해도에 의한 것으로 정상인의 소장상부의 pH(pH 5.5~6.5)에서 유리 담즙산의 약 50%가 양자를 받은 형태가 되어 이온화되지 않지만, glycine과 결합된 담즙산은 대부분 이온화되고 taurine과 결합된 담즙산은 거의 모두 용해되는 것으로 알려져 있다(Carey와 Cahalane, 1988). De Smet 등(1994)은 건강한 사람에서 담즙산 pool의 약 75%가 복합담즙산 형태로 재흡수되고, 나머지 25%는 장내에서 가수분해되며, 담즙산 pool의 15% 정도가 유리 담즙산 형태로 재흡수된다고 하면서, 결국 유리 담즙산의 60%가 수동적으로 흡수되고 40%는 분변으로 배설된다고 하였다(Fig. 3).

따라서 복합담즙산이 가수분해되면, 용해도가 감소하고 유효력이 떨어져(Hofmann과 Mysels, 1992; Tannock, 1995), 장내에서 복합담즙산과 같이 cholesterol 흡수에 도움을 주지 못한다. 이러한 가설은 무균 동물에서보다는 정상 균총을 갖는 동물의 혈중 cholesterol 농도가 낮은 사실과도 관련이 있다고 보고되고 있다(Mott 등, 1973).

한편, 담즙산의 장관순환이 외과적, 약물학적, 병리학적 간섭을 받게 되면, 간에서 담즙산 합성이 증가되거나, cholesterol 요구가 증가하는데(Vlahcevic 등, 1990), 분변으로 담즙산의 유실은 새로운 담즙산 합성을 위한 전구물질로 cholesterol을 필요로 하게 된다(Driessen과 De Boer, 1989; De Rodas 등, 1996). 간에서 담즙산의 합성은 간으로 돌아오는 담즙산의 양에 의해 조절되며(Danielson과 Sjoval, 1975), 장관순환의 간섭정도에 비례하여 최대 담즙

산 합성율에 도달할 때까지 증가하는 것으로 보고되고 있다(Dowling 등, 1970). 따라서 cholesterol 요구의 증가로 간에서 cholesterol 합성율이 증가하며 또한 간에서 plasma lipoprotein cholesterol의 흡수와 분해작용이 증가하게 된다. 그 결과 일반적으로 혈청 cholesterol은 감소하게 되는 것으로 보고되고 있다(Smit 등, 1990; Suckling 등, 1991). 고 지방혈증 환자의 치료에 사용되고 있는 Cholestipol(cholestipol hydrochloride)과 Questran(cholestyramine)은 장 내에서 담즙산과 정전기적인 결합을 통하여 담즙산의 분변으로 배출을 증가시키고, 장간순환을 억제하여 결과적으로 혈중 LDL과 총 cholesterol 함량을 감소시키는 것으로 알려져 있다(Lyons 등, 1994).

2. 젖산균의 복합담즙산 분해(bile salt deconjugation)

장내에 생존하는 박테리아들에서 복합담즙산의 펩타이드 결합을 가수분해하는 활성이 발견된 이후, *Lactobacillus* sp. strain 100-100, *Bifidobacterium longum* BB536, *Clostridium. perfringens* MCV815, *Bacteroides fragilis* ssp. *fragilis*에서 복합담즙산 분해효소(bile salt hydrolase)가 분리 정제되어왔다. *Lactobacilli*의 복합담즙산 분해활성의 미생물학적 중요성에 대해 많은 결과들이 보고되고 있지만 아직 확실하게 규명되지는 않았다. De Smet 등(1995)과 Savage(1992)는 복합담즙산 분해는 *Lactobacillus* 세포의 생존에 있어 중요한 독소 제거 반응으로써, 세포내 산성화를 유발하는 유기산처럼 해리되지 않은 담즙산의 형태가 독소로 작용한다고 하였다. 그러나 taurine 또는 glycine과 결합하지 않은 유리 담즙산이 복합담즙산보다 미생물의 성장억제효과가 크므로 미생물의 복합담즙산 분해는 독소 제거 반응으로 보기는 어려운 것으로 보고되고 있다(Floch 등, 1972). 그리고 복합담즙산 분해결과 생성된 담즙산의 steroid moiety를 세포의 전구물질로 사용할 가능성에 대해서 Tannock 등(1989)은 lactobacilli는 steroid moiety를 세포의 전구물질로 이용하지 못하며, taurine 또는 taurine-복합담즙산은 lactobacilli의 성장에 영향을 주지 못한다고 보고하였다.

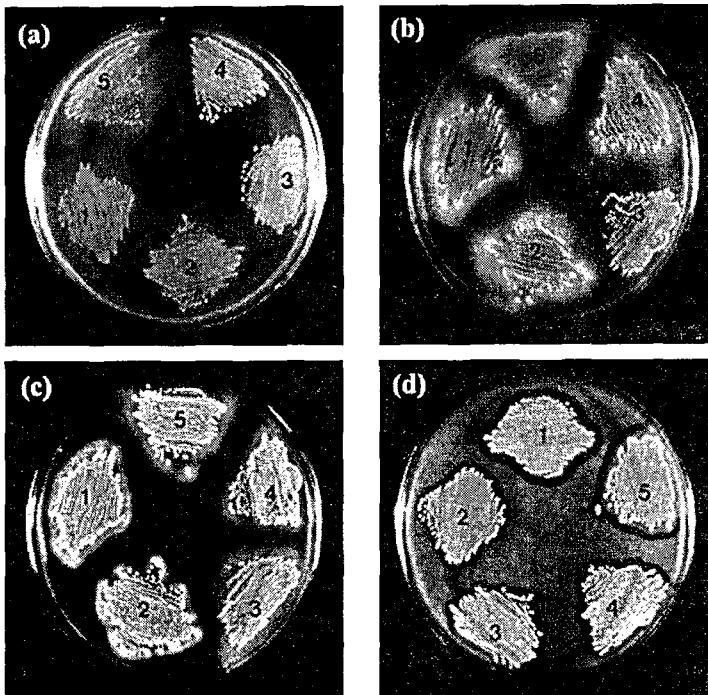


Fig. 4. Deconjugation of bile salts by *L. acidophilus* SNUL020 (1), SNUL01 (2), FM01 (3), FM02 (4), and PF01 (5) on bile salt-MRS agar plates.
(a): TCA, (b): TCDCA, (c): TDCA, (d): TLCA, (e): GCDCA, (f): GDCA.

Table 2. Deconjugation of bile salts (1 mM) by *L. acidophilus* on bile salt-MRS agar plates.

Bile salts	Diameter of the precipitate halo				
	<i>L. acidophilus</i> (strains)				
	SNUL020	SNUL01	FM01	FM02	PF01
TCA	+++	+++	++	+	+++
TCDCA	+++	+++	+	++	+++
TDCA	+++ ^a	+++ ^a	+++ ^a	++ ^a	+++ ^a
TLCA	++ ^b	++ ^b	++ ^b	++ ^b	++ ^b
GCA	+	+	+	+	+
GCDCA	+	++	++	++	+++
GDCA	+ ^a	+++ ^a	+++ ^a	++ ^a	+++ ^a

^a, precipitate halo around opaque granular white colonies; ^b, clear zone around white colonies; +, < 2 mm; ++, 2-5 mm; +++, ≥ 5 mm.

Fig. 4는 사람에서 분리된 *L. acidophilus* SNUL020 및 SNUL01, 시판 발효유에서 분리된 *L. acidophilus* FM01 및 FM02, 그리고 돼지에서 분리된 *L. acidophilus* PF01의 복합담즙산 분해(Table 2)에 의해 MRS 한천평판배지에서 나타나는 현상으로, taurocholic acid(TCA)와 glycocholic acid(GCA)의 분해결과 균락주위에 침전환이 taurocholic acid(TCDCA)와 glycocholic acid(GCDCA)의 경우에는 광채가 있는 침전환이, taurodeoxycholic acid(TDCA)와 glycodeoxycholic acid(GDCA)의 경우에는 침전환과 불투명한 백색 과립성 균락들(opaque granular white colonies) 이, 그리고 tauroolithocholic acid(TLCA)의 경우에는 균락주위가 불투명한 상태에서 투명한 존(zone)이 형성됨을 보여주고 있다.

한천평판에서 젖산균주들의 복합담즙산 분해결과 나타나는 이러한 현상은 담즙산의 pH에 따른 용해성과 관계가 있는 것으로 보고되고 있다. 수용액에서 taurine-복합담즙산의 pKa는 pH 1.9이고 유리 담즙산의 pKa는 대략 pH 5.0(Small, 1971)이므로 산성 pH에서는 유리 담즙산이 양자를 얻어 침전되고 taurine-복합담즙산은 완전히 이온화된 상태로 용액에 남게 된다. 반면, glycine-복합담즙산의 pKa는 대략 pH 3.9(Fini와 Roda, 1987)로 산성 pH에서 부분적으로 침전되는 것으로 알려져 있다. 이것은 *L. acidophilus* 균주들의 복합담즙산 분해결과 나타난 침전환 또는 불투명한 백색 균락들을 채취하여 thin-layer chromatography를 이용하여 분해산물을 분석한 결과에서도 알 수 있는데, TCA가 첨가된 한천배지에서 형성된 침전환에서는 cholic acid가(Fig. 5a), TCDCA가 첨가된 한천배지에서 형성된 침전환에서는 chenodeoxycholic acid가(Fig. 5b), 그리고 TDCA 분해결과 형성된 불투명한 백색 균락 주위에서는 deoxycholic acid가 검출되었다(Fig. 5c).

한편, 장내 미생물들에 의해 생성되는 복합담즙산 분해산물의 부작용들이 보고되고 있는데, 1차 유리 담즙산은 쉽게 발암성의 2차 담즙산으로 전변되어 결장암을 유발할 수 있기 때문에 장내에서 미생물의 bile salt hydrolase는 바람직하지 않다고 보고되고 있다(Kandell과 Bernstein, 1991). 즉, 대장내에서 담즙산은 장내 미생물의 7 α -dehydroxylase 활성에 의해 1차 담즙산인 cholic acid와 chenodeoxycholic acid로부터 7 α -hydroxyl기가 제거되면서 2차 담즙산인 deoxycholic acid와 lithocholic acid가 각각 생성된다(Takahashi와 Morotomi, 1994). 이러한 7 α -dehydroxylase 활성이 *Clostridium*과 *Eubacterium* 속에서 발견되고 있으나(Hylemon, 1985), 장내에 존재하는 젖산균들과 발효유제품에 사용되는 젖산균들은 7 α -dehydroxylase 활성이 없는 것으로 보고되고 있으며(Ferrari 등, 1980; Takahashi와 Morotomi, 1994), Gilliland와 Speck(1977)은 lactobacilli에 의해 glycocholate 및 taurocholate의 분해산물은 더 이상 분해되지 않는다고 하였다. 이 시험에서도 *L. acidophilus* 균주들은 cholic acid(3 α , 7 α , 12 α -trihydroxy-5 β -cholanolic acid)를 deoxycholic acid(3 α , 12 α -dihydroxy-5 β -cholanolic acid)로 전환시키는 7 α -dehydroxylase 활성을 갖고 있지 않은 것으로 확인되었다(Fig. 5a).

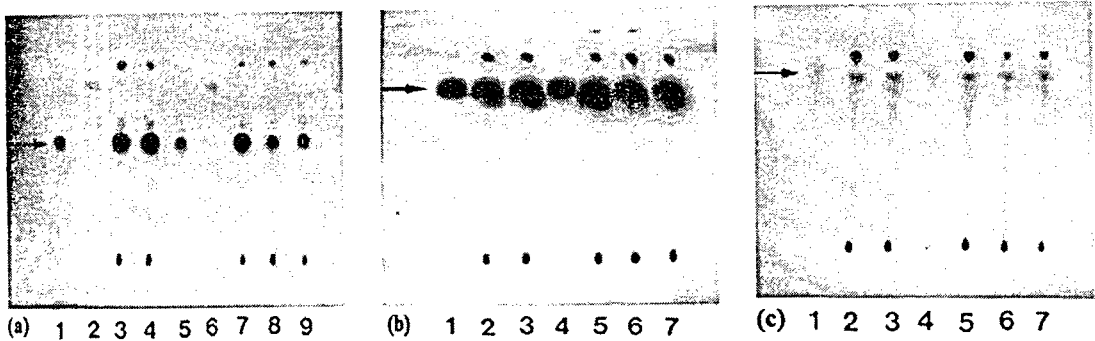


Fig. 5. Identification of the deconjugation products of bile salts by *L. acidophilus* on bile salt-MRS agar plates.
 (a): 1, 5 (cholates); 2, 6 (deoxycholates); 3 (*L. acidophilus* SNUL020); 4 (*L. acidophilus* SNUL01); 7 (*L. acidophilus* FM01); 8 (*L. acidophilus* FM02); 9 (*L. acidophilus* PF01).
 (b): 1, 4 (chenodeoxycholates); 2 (*L. acidophilus* SNUL020); 3 (*L. acidophilus* SNUL01); 5 (*L. acidophilus* FM 01); 6 (*L. acidophilus* FM02); 7 (*L. acidophilus* PF01).
 (c): 1, 4 (deoxycholates); 2 (*L. acidophilus* SNUL020); 3 (*L. acidophilus* SNUL01); 5 (*L. acidophilus* FM01); 6 (*L. acidophilus* FM02); 7 (*L. acidophilus* PF01).

3. 젖산균의 복합담즙산 분해(bile salt deconjugation)와 성장(growth)

젖산균의 복합담즙산 분해활성은 대수성장 말기에서 정체성장 초기에 도달할 때 가장 높은 것으로 보고되고 있다(Walker와 Gilliland, 1993). *L. acidophilus* 균주의 성장중 분해되는 TCA와 GCA의 양을 측정된 결과, 균종에 따

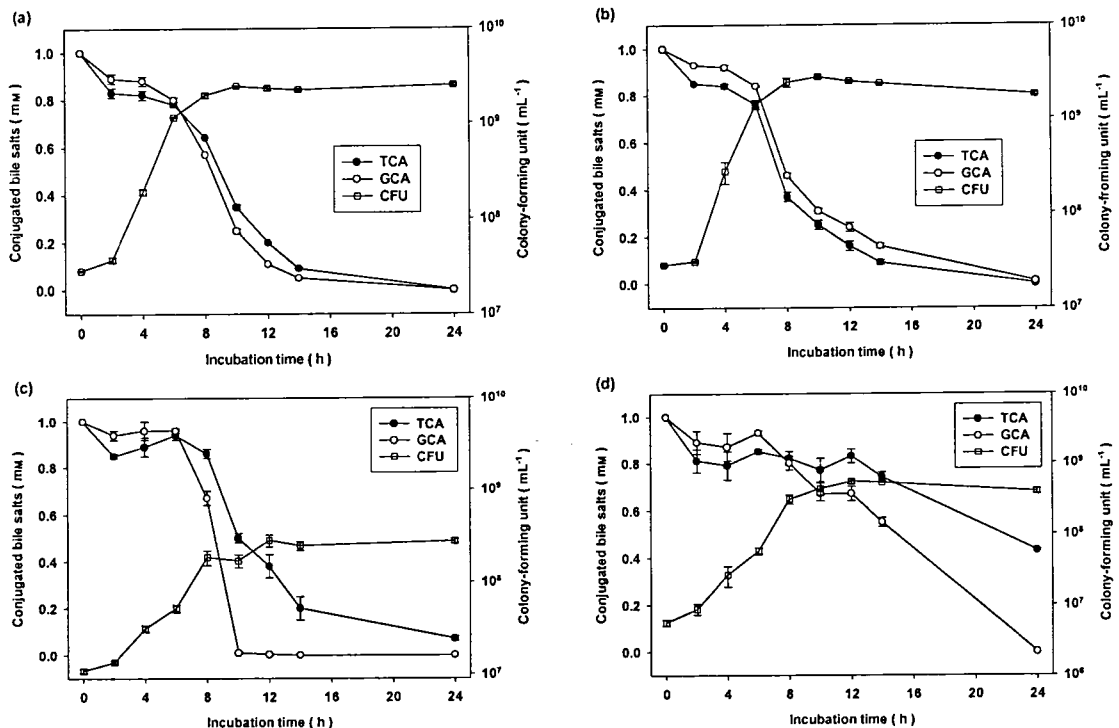


Fig. 6. Deconjugation of bile salts and growth of *L. acidophilus* SNUL020 (a), SNUL01 (b), FM01 (c), and FM02 (d) in MRS-thio broth containing 1 mM TCA and GCA. Error bars indicate standard errors.

Table 3. Growth of *L. acidophilus* strains in MRS-thio broth without and with 1 mM TCA and GCA.

	<i>L. acidophilus</i> (strains)			
	SNUL020	SNUL01	FM01	FM02
Without TCA and GCA				
Nmax ^a	9.40	9.45	9.16	9.13
Mumax ^b	1.75	1.81	1.03	0.90
<i>t</i> -lag ^c	1.78	1.37	1.91	1.48
<i>t</i> -d ^d	0.40	0.38	0.67	0.77
With TCA and GCA				
Nmax ^a	9.37	9.37	8.42	8.70
Mumax ^b	1.29	1.55	0.65	0.85
<i>t</i> -lag ^c	2.58	2.57	3.06	2.84
<i>t</i> -d ^d	0.54	0.45	1.07	0.82

^aNmax, final bacterial cell number (Log₁₀ CFU mL⁻¹); ^bMumax, maximum specific growth rate (h⁻¹); ^c*t*-lag, lag time (h); ^d*t*-d, doubling time (h). Values in parentheses represent standard errors.

라 성장중 TCA와 GCA의 분해 정도에 차이가 있는 것으로 나타났다(Fig. 6). *L. acidophilus* SNUL020 및 SNUL01은 TCA와 GCA를 동시에 분해하는 활성을 나타내면서, 정체기에 도달했을 때 대부분의 TCA와 GCA를 분해하였다(Figs. 6a와 b). 그리고 *L. acidophilus* FM01과 FM02는 TCA 보다 GCA에 대해 분해활성이 높은 것으로 나타났으며(Figs. 6c와 d), *L. acidophilus* FM01은 1 mM TCA와 1 mM GCA에 의해 생장이 억제되는 경향을 나타냈지만 복합담즙산 분해활성은 높은 것으로 확인되었다(Fig. 6c).

젖산균의 복합담즙산 분해활성과 내성에 관한 많은 연구결과들이 보고되고 있다. 그러나 아직 이 두 특성간에 명확한 관계는 정립되어 있지 않다. De Smet 등(1994)은 bile salt hydrolase 활성이 담즙산 내성에 중요한 요인으로, 반면 Tannock 등(1997), Taranto 등(1996), 그리고 Usman과 Hosono(1999)는 담즙산 내성과 복합담즙산 분해성간에 직접적인 관계는 없다고 하였다. Fig. 6과 Table 3은 이러한 상반된 결과들을 잘 나타내고 있다. *L. acidophilus* SNUL020과 SNUL01은 복합담즙산 분해활성이 높음과 동시에 TCA와 GCA 첨가에 의해 성장에 크게 영향을 받지 않아 복합담즙산 분해활성과 담즙산 내성간에 상관관계가 있는 것처럼 보였으나, 비교적 높은 복합담즙산 분해활성을 나타낸 *L. acidophilus* FM01은 생장이 억제되었고, 반면 복합담즙산 분해활성이 낮은 *L. acidophilus* FM02는 상대적으로 덜 영향을 받는 것으로 확인되었다.

4. 젖산균의 복합담즙산 분해에 의한 cholesterol 감소

일반적으로 유리 담즙산은 cholesterol과 물리 화학적으로 상호작용을 하며(De Smet 등, 1994), pH 5.5 이하에서 담즙산과 cholesterol이 함께 침전할 수 있다(Klaver와 Van der Meer, 1993). 복합담즙산 분해에 의하여 생성된 유리 담즙산과 cholesterol간의 co-precipitation 효과에 있어, taurodeoxycholic acid(74%), glycodeoxycholic acid(62%), 그리고 glycocholic acid(42%) 순서로 [³H]cholesterol 감소 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(Taranto 등, 1997).

*L. acidophilus*의 trihydroxy-복합담즙산(TCA와 GCA)과 dihydroxy-복합담즙산(TCDCA, TDCA, 그리고 GCDCA) 분해에 의한 배지내 수용성 cholesterol 감소를 시험결과에서도, 대체로 trihydroxy-복합담즙산보다 dihydroxy-복합담즙산을 첨가했을 때 잔존 수용성 cholesterol 함량이 가장 적은 것으로 나타났다(Fig. 7). 대부분의 경우 배양액의 pH가 낮을 때 수용성 cholesterol 함량이 적었지만 *L. acidophilus* FM02는 GCDCA를 첨가했을 때 비교적 높은 배양액의 pH에서도 상대적으로 많은 수용성 cholesterol이 감소하는 경향을 나타냈다.

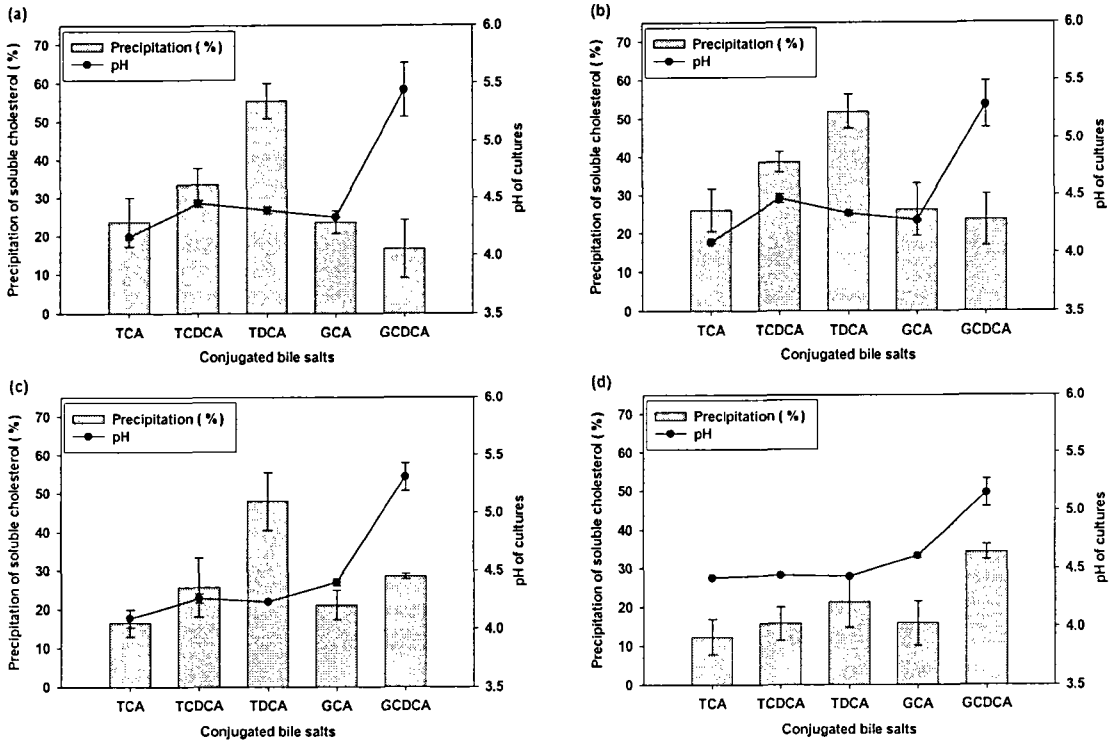


Fig. 7. Precipitation of soluble cholesterol by *L. acidophilus* SNUL020 (a), SNUL01 (b), FM01 (c), and FM02 (d) in MRS-thio broth containing 0.2% (w/v) trihydroxy- or dihydroxy- conjugated bile salts. Error bars indicate standard errors.

5. Acidophilus milk 섭취에 의한 분변 steroids의 변화

소장에서 흡수되지 않은 cholesterol은 대장내 박테리아에 의해 주로 coprostanol(65%)과 coprostanone(10%)으로 그리고 미량의 cholestanone과 epicoprostanol로 전환되어(MacDonald 등, 1983), 최종적으로 분변으로 배설되

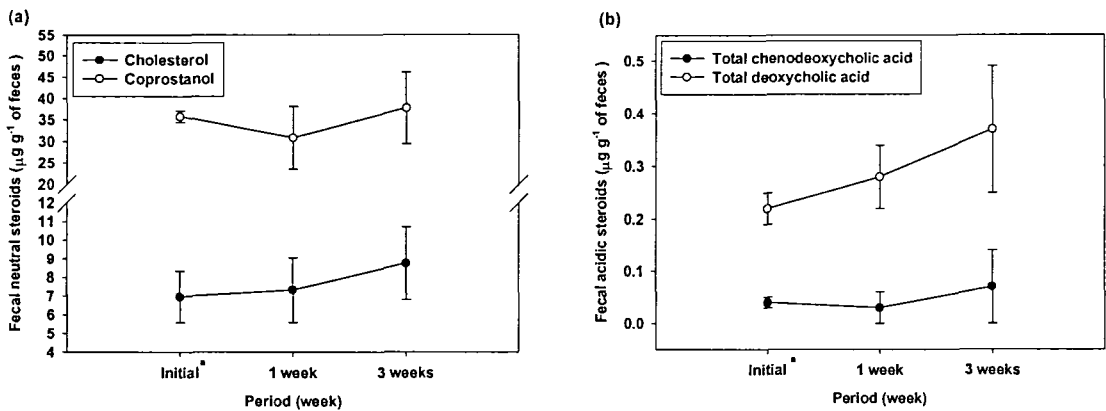


Fig. 8. Effect of acidophilus milk intake containing *L. acidophilus* SNUL01 on the fecal excretion of neutral (a) and acidic steroids (b). Error bars indicate standard errors. Initial²: 2 weeks prior to acidophilus milk intake.

는데, 이것을 담즙산(산성 steroids)과 구별하여 중성 steroids라고 한다. 그리고 정상인의 분에서는 deoxycholic acid와 lithocholic acid가 대부분을 차지하고, chenodeoxycholic acid와 기타 $3\beta, 12\alpha$ -dihydroxycholanoic acid, 3β -hydroxy-12-ketocholanoic acid, 및 3α -hydroxy-12-ketocholanoic acid 등이 미량 발견되며, 대부분이 유리 담즙산 형태로 발견된다(Owen 등, 1984).

복합담즙산 분해활성이 높은 *L. acidophilus* SNUL01이 함유된 acidophilus우유를 자원자들에게 섭취하게한 결과, 자원자들의 분에서 cholesterol과 deoxycholic acid의 양이 증가하는 경향을 나타냈다(Fig. 8). 이것은 acidophilus우유에 함유된 *L. acidophilus* SNUL01의 복합담즙산 분해활성에 의해 cholesterol의 용해도가 감소하여 흡수되지 못한 cholesterol이 분으로 배출되어 결국 자원자들의 분내 cholesterol 함량이 증가하는 것으로 판단된다. 그리고 taurine 및 glycine과 결합된 deoxycholic acid의 복합담즙산 분해에 의해 분에서 deoxycholic acid가 증가하고 또한 소장에서 흡수되지 못한 cholic acid가 장내 박테리아의 7α -dehydroxylase에 deoxycholic acid로 전변되어 분으로 배출되어 분내 deoxycholic acid의 양이 증가한 것으로 판단된다.

6. Acidophilus milk 섭취에 의한 혈중 cholesterol 수준의 변화

혈중 고 cholesterol증(Hypercholesterolemia)를 치료하기 위해 담즙산의 분배설을 증가시키는 약제들과 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A 억제제(Vlahcevic 등, 1990)가 사용되어 왔으나, Taranto 등(1998)은 생균제로서 젖산균을 섭취하는 것이 사람의 혈중 cholesterol을 낮추는데 더 자연적인 방법이라고 주장하였다. Lactobacilli의 혈중 cholesterol 저하효과에 대해, 아직 명확한 기작은 밝혀지고 있지 않지만 복합담즙산 분해에 의해 cholesterol 수준이 낮추어질 수 있다는 가설이 제안되고 있다(De Smet 등, 1994).

L. acidophilus SNUL01이 함유된 acidophilus우유의 섭취에 의해 시험대상자들(총 94명)의 총 혈중 cholesterol 수준이 감소하는 경향을 나타냈으며($p < .01$), 섭취를 중단한 1주 후에도 감소효과가 유지되었다($p < .05$)(Fig. 9a). 특히, 초기 혈중 cholesterol 수준이 220 mg/dl 이상인 시험대상자들에서 감소효과가 크게 나타나 초기 242.9 ± 4.9 mg/dl 수준에서 4주째에는 226.4 ± 4.0 mg/dl, 그리고 acidophilus우유의 섭취를 중단한 1주 후에는 219 ± 5.5 mg/dl 수준으로 크게 감소하였다. Acidophilus우유의 섭취에 의한 시험대상자들의 감소효과를 Paired comparison 검정법

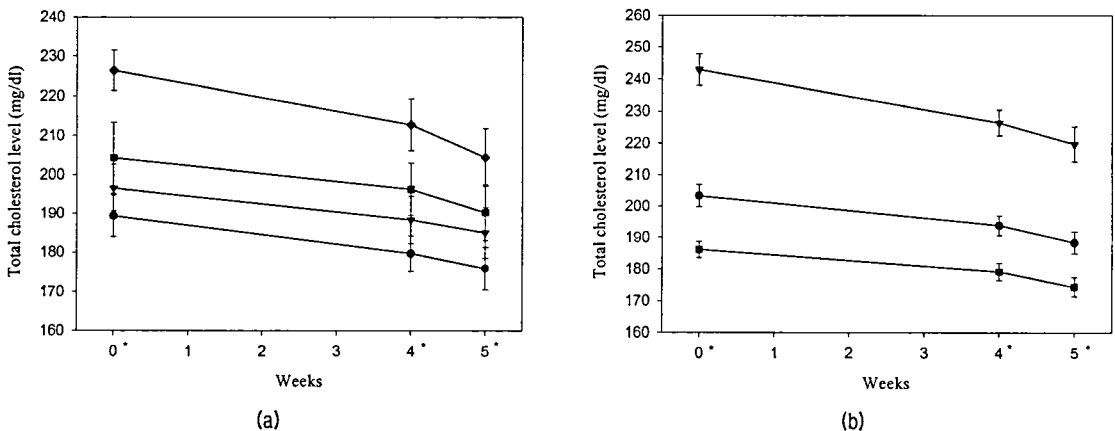


Fig. 9. Effect of acidophilus milk on the volunteers' total serum cholesterol level. Error bars indicate standard error.

(a) Symbols: ●, total; ▼, ≥ 220 mg/dl; ■, < 220 mg/dl.

(b) Symbols: ●, twenties; ▼, thirties; ■, forties; ◆, \geq fifties.

0*, Before the intake of acidophilus milk; 4*, 4th weeks after the intake of acidophilus milk; 5*, 1st weeks after the stopping of acidophilus milk.

Table 4. Changes of the total serum cholesterol level of volunteers.

Cholesterol group		Total cholesterol (mg/dl)	
		Mean ± SE	P value ^a
Total	A	-9.6 ± 2.0	0.0001
	B	-5.4 ± 2.2	0.0150
≥ 220(mg/dl)	A	-16.5 ± 3.8	0.0002
	B	-6.8 ± 4.5	0.1436
< 220(mg/dl)	A	-6.9 ± 2.2	0.0022
	B	-4.8 ± 2.5	0.0552

^a Ho : $\mu = 0$; A : Difference between initial value and the value after acidophilus milk intake; B : Difference between the value after acidophilus milk intake and the value after stopping acidophilus milk.

으로 각 평균값 차이간의 유의성을 검정한 결과(Table 4), acidophilus우유 섭취 전과 섭취 후간에 높은 유의적인 차이를 나타냈으며($p < .01$), 섭취를 중단한 후에도 유의적으로 총 혈중 cholesterol이 감소하는 것으로 나타났다($p < .05$). 한편, acidophilus우유의 섭취를 중단한 1주 후에도 유의적인 혈중 cholesterol 저하효과가 나타나는 것은, 자원자들의 분에서 발견되는 lactobacilli 수가 *L. acidophilus* SNUL01의 섭취를 중단한 1주 후에도 유의적으로 증가하는 경향을 나타났다고 보고한 Jung 등(1999)의 연구결과와 같이, *L. acidophilus* SNUL01이 사람의 장내에서 상당기간 정착하고 성장하여 지속적으로 혈중 cholesterol을 저하시킨 것으로 판단된다. 시험대상자들을 연령에 따라 acidophilus우유의 섭취에 의한 혈중 cholesterol 변화를 시험한 결과에서는 연령이 증가할수록 초기 총 혈중 cholesterol 수준이 높았고, acidophilus우유 섭취에 의해 모든 연령군에서 총 혈중 cholesterol 양의 감소효과가 나타났으며 특히, 다른 연령군 보다 50대 이상의 연령군에서 총 혈중 cholesterol 양의 감소가 상대적으로 크게 나타났다(Fig. 9b).

이 시험결과와 유사하게 복합담즙산 분해활력이 높은 젖산균을 돼지에 급여한 결과, 혈액의 총 cholesterol과 LDL-cholesterol이 유의적으로 크게 감소하였고, 분으로 배출되는 중성 steroids와 담즙산의 양이 증가하였다는 연구결과가 보고 되었으며(De Smet 등, 1998), De Rodas 등(1996)도 많은 함량의 cholesterol을 섭취하는 돼지에게 복합담즙산 분해활력이 높은 *L. acidophilus* ATCC 43121과 calcium을 함께 급여한 결과, 총 혈중 cholesterol, LDL-cholesterol, 그리고 담즙산 함량이 크게 감소하였고, 이는 *L. acidophilus* ATCC43121의 높은 복합담즙산 분해활력과 calcium에 의해 담즙산의 장간순환이 영향을 받아 혈중 cholesterol 저하효과가 나타난 것이라고 하였다.

III. 요약

담즙산은 cholesterol의 대사산물로 체내에서 cholesterol을 제거하는 주경로로서, 체내 cholesterol 대사를 조절하는 중요한 수단이다. 최근에 복합담즙산 분해활력이 높은 *L. acidophilus*에 의한 혈중 cholesterol 저하효과에 관한 많은 연구들이 보고되고 있으며, 이것은 복합담즙산의 분해로 생성되는 유리 담즙산의 분 배출 증가와 장내 cholesterol 흡수에 필요한 복합 micelle 형성의 방해에 의한 것으로 알려져 있다. 즉, 유리 담즙산은 장내에서 복합담즙산보다 용해성이 낮아서 흡수되지 않고 분으로 배출되기 쉬워, 간에서는 분으로 배출된 양만큼의 부족한 복합담즙산을 보충하기 위해 cholesterol을 이용하여 새로운 복합담즙산을 생성하기 때문에 결국은 체내의 혈중 cholesterol 수준을 감소시키는 것으로 생각된다. 또한 담즙으로 분비되는 복합담즙산은 소장내에서 cholesterol의 용해 흡수에 도움을 주지만 유리 담즙산은 cholesterol 용해성이 낮기 때문에, 장내 cholesterol 흡수에 영향을 미치는 것으로 생각된다.

IV. 참고문헌

1. Ahn, Y. T., Kim, B. H., and Kim, H. U. 2000. Effect of the intake of acidophilus milk on the serum cholesterol level of Korean adult. Korean Journal of Animal Science and Technology. 42:223-234.
2. Brown, M.S. and J.L. Goldstein. 1984. How LDL receptors influence cholesterol and atherosclerosis. Sci. Am. 251:52-60.
3. Carey, M.C. and M.J. Cahalane. 1988. Enterohepatic circulation, pp. 573-616. In I.M. Arias, W.B. Jakoby, H. Popper, D. Schachter, and D.A. Shafritz(eds.), The liver biology and pathobiology, 2nd edn. RAVEN PRESS, New York.
4. Chen, Z., T.H. Herdt, J.S. Liesman, N.K. Ames, and R.S. Emery. 1995. Reduction of bovine plasma cholesterol concentration by partial interruption of enterohepatic circulation of bile salts: a novel hypocholesterolemic model. J. Lipid Res. 36:1544-1556.
5. Chikai, T., H. Nakao, and K. Uchida. 1987. Deconjugation of bile acids by human intestinal bacteria implanted in germ-free rats. Lipids. 22:669-671.
6. Danielson, H. and J. Sjövall. 1975. Bile acids metabolism. Ann. Rev. Biochem. 44:233-253.
7. Danielson, A.D., E.R. Peo, Jr., K.M. Shahani, A.J. Lewis, P.J. Whalen, and M.A. Amer. 1989. Anticholesterolemic property of *Lactobacillus acidophilus* yogurt fed to mature boars. J. Anim. Sci. 67:966-974.
8. De Rodas, B.Z., S.E. Gilliland, and C.V. Maxwell. 1996. Hypocholesterolemic action of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 and calcium in swine with hypercholesterolemia induced by diet. J. Dairy Sci. 79:2121-2128.
9. De Smet, I., L. Van Hoorde, M. Vande Woestyne, H. Christiaens, and W. Verstraete. 1995. Significance of bile salt hydrolytic activities of lactobacilli. J. Appl. Bacteriol. 79:292-301.
10. De Smet, I., L. Van Hoorde, N. De Saeyer, M. Vande Woestyne, and W. Verstraete. 1994. In Vitro study of bile salt hydrolase(BSH) activity of BSH isogenic *Lactobacillus plantarum* 80 strains and estimation of cholesterol lowering through enhanced BSH activity. Microb. Ecol. Health Dis. 7:315-329.
11. De Smet, I., P. De Boever, and W. Verstraete. 1998. Cholesterol lowering in pigs through enhanced bacterial bile salt hydrolase activity. Br. J. Nutr. 79:185-194.
12. Dowling, R.H., E. Mack, D.M. Small, and J. Picott. 1970. Effects of controlled interruption of the enterohepatic circulation of bile salts by biliary diversion and by ileal resection on bile salt secretion, synthesis and pool size in the rhesus monkey. J. Clin. Invest. 49:232-242.
13. Driessen, F.M. and R. De Boer. 1989. Fermented milks with selected intestinal bacteria: a healthy trend in new products. Neth. Milk Dairy J. 43:367-382.
14. Ferrari, A., N. Pacini, and E. Canzi. 1980. A note on bile acids transformations by strains of *Bifidobacterium*. J. Appl. Bacteriol. 49:193-197.
15. Fini, A. and A. Roda. 1987. Chemical properties of bile acids. IV. Acidity constants of glycine-conjugated bile acids. J. Lipid Res. 28:755-759.
16. Floch, M.H., H.J. Binder, B. Filburn, and W. Gershengoren. 1972. The effect of bile acids on intestinal microflora. Am. J. Clin. Nutr. 24:1418-1426.
17. Gilliland, S.E. and M.L. Speck. 1977. Deconjugation of bile acids by intestinal lactobacilli. Appl. Environ. Microbiol. 33:15-18.
18. Grunewald, K.K. 1982. Serum cholesterol levels in rats fed skim milk fermented by *Lactobacillus acidophilus*. J. Food Sci. 47:2078-2079.
19. Harrison, V.C. and G. Peat. 1975. Serum cholesterol and Bowel flora in the newborn. Am. J. Clin. Nutr. 28:1351-1355.
20. Hofmann, A.F. and K.J. Mysels. 1992. Bile acid solubility and precipitation in vitro and in vivo: the role of conjugation, pH, and Ca²⁺ ions. J. Lipid Res. 33:617-626.
21. Hylemon, P.B. 1985. Metabolism of bile acids in intestinal microflora, pp. 331-343. In H. Danielsson and J. Sjövall(eds.),

- Sterols and Bile Acids, Vol. 12. Elsevier Science Publishers, B. V., Amsterdam.
22. Jung, E.J., Y.T. Ahn, and H.U. Kim. 1999. Effects of *Lactobacillus acidophilus* intake on microfloral changes in human feces. Korean J. Food Sci. Technol. 31:1642-1647.
 23. Kandell, R.L. and C. Bernstein. 1991. Bile salt/acid induction of DNA damage in bacterial and mammalian cells: implications for colon cancer. Nutr. Cancer. 16:227-238.
 24. Kim, H.U. 1995. Blood cholesterol-lowering effect of lactic acid bacteria and fermented milk. The 9th International Symposium on Lactic Acid Bacteria and Human Health. Seoul, Korea. pp.55-62.
 25. Klaver, F.A.M. and R. Van der Meer. 1993. The assumed assimilation of cholesterol by lactobacilli and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt-deconjugating activity. Appl. Environ. Microbiol. 59:1120-1124.
 26. Lee, Y.W. 1997. Effect of fermented milk on the blood cholesterol level of Korean(in Korean). J. Fd. Hyg. Safety. 12: 83-95.
 27. Lewis, R. and S. Gorbach. 1972. Modification of bile acids by intestinal bacteria. Arch. Intern. Med. 130:545-549.
 28. Lyons, D., J. Webster, G. Fowler, and J.C. Petrie. 1994. Colestipol at varying dosage intervals in the treatment of moderate hypercholesterolaemia. Br. J. Clin. Pharmac. 37:59-62.
 29. Macdonald, I.A., V.D. Bokkenheuser, J. Winter, A.M. McLernon, and E.H. Mosbach. 1983. Degradation of steroids in the human gut. J. Lipid Res. 24:675-700.
 30. Mallory, A., F. Kern, J. Smith, and D. Savage. 1973. Patterns of bile acids and microflora in the human small intestine. Gastroenterology. 64:26-33.
 31. Mott, G.E., R.W. Moore, H.E. Redmond, and R. Reiser. 1973. Lowering of serum cholesterol by intestinal bacteria in cholesterol-fed piglets. Lipids. 8:428-431.
 32. Owen, R.W., M.H. Thompson, and M.J. Hill. 1984. Analysis of metabolic profiles of steroids in faeces of healthy subjects undergoing chenodeoxycholic acid treatment by liquid-gel chromatography and gas-liquid chromatography-mass spectrometry. J. Steroid. Biochem. 21:593-600.
 33. Salter, J., M. Chaplin, J. Dickerson, and F. Davis. 1996. Bile acids and health: is fibre the answer?. Nutr. Food Sci. 6: 29-33.
 34. Savage, D.C. 1992. Gastrointestinal microbial ecology; possible modes of action of direct-fed microbials in animal production- a review of the literature, pp. 11-81. In National Feed Ingredients Association(ed.), Direct-fed Microbials in Animal Production. West Des Moines, USA.
 35. Small, D.M. 1971. The physical chemistry of cholanic acids, pp. 249-356. In P.P. Nair and D. Kritchevsky(eds.), The bile acids: chemistry, physiology and metabolism, Vol. 1. Plenum publishing Corp., New York.
 36. Smit, M.J., A.M. Temmerman, R. Havinga, F. Kuipers, and R.J. Vonk. 1990. Short- and long-term effects of biliary drainage on hepatic cholesterol metabolism in the rat. Biochem. J. 269:781-788.
 37. Suckling, K.E., G.M. Benson, B. Bond, A. Gee, A. Glen, C. Haynes, and B. Jackson. 1991. Cholesterol lowering and bile acid excretion in the hamster with cholestyramine treatment. Atherosclerosis. 89:183-190.
 38. Takahashi, T. and M. Morotomi. 1994. Absence of cholic Acid 7 α -dehydroxylase activity in the strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. J. Dairy Sci. 77:3275-3286.
 39. Tannock, G.W. 1995. Microbiology of the gastrointestinal tract in relation to lactic acid bacteria. Int. Dairy J. 5: 1059-1070.
 40. Tannock, G.W., J.M. Bateup, and H.F. Jenkinson. 1997. Effect of sodium taurocholate on the in vitro growth on lactobacilli. Microb. Ecol. 33:163-167.
 41. Tannock, G.W., M.P. Dashkevich, and S.D. Feighner. 1989. Lactobacilli and bile salt hydrolase in the murine intestinal tract. Appl. Environ. Microbiol. 55:1848-1851.
 42. Taranto, M.P., D.G. De Llano, A. Rodriguez, A.P. De Ruiz Holgado, and G.F. De Valdez. 1996. Bile tolerance and

- cholesterol reduction by *Enterococcus faecium*, a candidate microorganism for the use as a dietary adjunct in milk products. *Milchwissenschaft*. 51:383-385.
43. Taranto, M.P., F. Sesma, A.P. De Ruiz Holgado, and G.F. De Valdez. 1997. Bile salts hydrolase plays a key role on cholesterol removal by *Lactobacillus reuteri*. *Biotechnol. Lett.* 19:845-847.
 44. Taranto, M.P., M. Medici, G. Perdigon, A.P. Ruiz Holgado, and G.F. Valdez. 1998. Evidence for hypocholesterolemic effect of *Lactobacillus reuteri* in hypercholesterolemic mice. *J. Dairy Sci.* 81:2336-2340.
 45. Tortuero, F., A. Brenes, and J. Riopez. 1975. The influence of intestinal(cecal) flora on serum and egg yolk cholesterol levels in laying hens. *Poultry Sci.* 54:1935-1938.
 46. Turley, S.D. and J.M. Dietschy. 1988. The metabolism and excretion of cholesterol by the liver, pp. 617-641. *In* I.M. Arias, W.B. Jakoby, H. Popper, D. Schachter, and D.A. Shafzitz(eds.), *The liver biology and pathobiology*, 2nd edn. Raven Press Ltd, New York.
 47. Usman and H. Hosono. 1999. Bile Tolerance, Taurocholate Deconjugation, and Binding of Cholesterol by *Lactobacillus gasseri* Strains. *J. Dairy Sci.* 82:243-248.
 48. Vlahcevic, Z.R., D.M. Heuman, and P.B. Hylemon. 1990. Physiology and pathophysiology of enterohepatic circulation of bile acids, pp. 341-377. *In* D. Zakim and T.D. Boyer(eds.), *Hepatology. A textbook of liver disease*, Vol. 1. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
 49. Walker, D.K. and S.E. Gilliland. 1993. Relationships among bile tolerance, bile salt deconjugation, and assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *J. Dairy Sci.* 76:956-961.