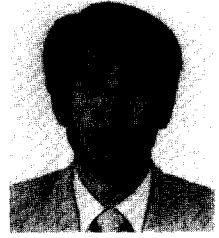


유산균 이용 의약품 개발



일동제약(주) 중앙연구소 김 태 한

1. 유산균 정장제

유산균 정장제는 사람이나 가축, 가금의 장내에 서식하는 유익균의 일종인 유산균을 제제화한 의약품 및 동물약품으로 장내균총의 이상 발효에 의하여 야기되는 제 증상의 개선을 목적으로 하고 있다. 대부분은 살아있는 균체를 사용하는 생균제로 미생물을 죽이는 작용을 갖는 Antibiotics에 대하여 미생물 활성화의 의미를 갖는 Probiotics라는 용어를 사용하기도 한다.

유산균 정장제의 유효성에 대한 최초의 연구보고는 1908년 Metchnikoff에 의하여 발표되었다(1). 장수촌으로 널리 알려진 불가리아 지방에서는 유산균 발효유인 요구르트를 다량으로 섭취한다는 사실에 주목하여 장내 부패를 방지하는 유산균이 건강과 장수에 크게 공헌할 수 있음을 시사하였다. 그 후 장내 Microflora가 갖는 병원성균에 대한 길항작용, 여러가지 장 질환에 대한 치료효과 등에 대한 연구보고가 축적되어 왔다. 장내 Microflora에서 유산균이 갖는 역할은 다음 항에서 좀 더 자세하게 검토하기로 하고 여기에서는 국내의 유산균 정장제 개발 현황, 약리작용 및 몇가지 문제점에 대하여 약술하고자 한다.

유산균이 Probiotics로서 그 유효성이 연구·보고된 후 많은 나라에서 다양한 균종을 사용한 유산균 제제가 개발·발매되었다(Table 1).

유산균 정장제는 특히 일본과 유럽에서 큰 시장을 형성하고 있으며 우리나라에서는 1962년 일동제약(주)에서 처음 개발·발매된 후 많은 유사제품이 발매되어 현재는 년 250억원 정도의 시장을 형성하고 있다(Table 2). 그러나 대부분이 외국으로부터

유산균 원료를 수입하여 제제화하기 때문에 자체 생산 기술은 큰 발전을 못하고 있는 실정이다.

유산균 정장제의 약리작용 Mechanism은 다음과 같이 몇가지로 대별할 수 있다(2).

1) 투여된 유산균이 장내에 정착·증식하여 유해균의 정착·증식을 방지한다. 이러한 결과는 유산균이 생성하는 유기산, 길항물질(Bacteriocin 등)에 의하여 유해균의 증식을 직접적으로 저해하기도 하며 유기산에 의해 장내의 pH를 대부분의 병원성균과 Fungi가 선호하는 약 알칼리성에서 약 산성으로 변화시켜 유해균의 증식을 억제하기도 한다.

2) 투여된 유산균이 장내에 정착·증식하지는 않지만, 그 균체 성분이 장내 유익균의 Growth factor로 작용한다.

3) 투여된 유산균은 장내 유해균에 의한 유독물질(Endotoxin, Amine, H₂S 등)의 생성을 억제하거나 생성된 유독물질을 분해 또는 불활성화 시킨다.

4) 유산균 생성물(특히 유기산)은 장의 연동 작용을 도와 음식물의 소화·흡수를 촉진시킨다.

유산균 정장제의 개발에서 첫번째 문제점은 사용 균종 또는 균주이다. 가장 이상적인 균종은 자연 서식처가 장내이며 또한 장내에서 우점종으로 존재하는 것들이다. 이와 같은 관점에서 지금까지 주로 사용된 *Lactobacillus* 및 *Streptococcus* 속의 균종 외에 *Bifidobacterium* 속의 균종들이 최근 각광을 받고 있다. *Bifidobacterium*은 장내 Microflora에서 우점종으로 존재하며 특히 인공영양아에서는 모유영양아와 비교하여 그 균수가 월등히 적기 때문에(3) 유아용 제제에 많이 이용되고 있다.

또 다른 문제점은 제제의 안정성, 즉 생균의 생존율이다. 우수한 생존율을 유지시키기 위하여 대

Table 1. 주요한 각국의 유산균 제제.

제제명	제조국	사용균종
Acidophilus Zyma	독일	<i>L. acidophilus</i>
Antibiophilus	독일	<i>L. acidophilus</i> 의 항생물질 내성주
Bacid Culture	미국	<i>L. acidophilus</i>
Biofermin	일본	<i>Str. faecalis</i>
Biosmin	일본	<i>L. bifidus, Str. faecalis</i>
Carboyoghurt	이태리	<i>L. bulgaricus</i>
Enpac	영국	<i>L. acidophilus</i> 의 항생물질 내성주
Lacbon	일본	<i>L. sporogenes</i>
Lacteol	프랑스	<i>L. acidophilus</i>
Lactinex	미국	<i>L. acidophilus, L. bulgaricus</i>
Lactobacillin	화란	<i>L. acidophilus</i>
Lactobios	이태리	<i>L. bulgaricus</i>
Lacto-Ferment	스위스	<i>L. acidophilus</i>
Lactophilus	포르투갈	<i>L. acidophilus</i>
Neo-Cultol	미국	<i>L. acidophilus</i>
Omniflora	독일	<i>L. acidophilus, L. bifidus</i>
Paraghurt LEO	덴마크	<i>L. bulgaricus</i> 의 수종
Vi-Lactis	이태리	<i>L. lactis</i>

Table 2. 국내 주요 유산균 제제(복합균제제는 유산균 종만 표시하였음).

제조회사	제품명	균주	생균수
일동제약	비오비타	<i>L. sporogenes</i>	$1 \times 10^8/g$
	비오티스	<i>B. bifidum</i>	$1 \times 10^8/g$
		<i>L. sporogenes</i>	$1 \times 10^8/g$
		<i>L. acidophilus</i>	$1 \times 10^8/g$
	락토메드	<i>B. bifidum</i>	$1 \times 10^8/g$
		<i>Str. faecalis</i>	$1 \times 10^8/g$
		비오칼리스	<i>Str. faecalis</i> 의 항생제내성 균주
태광	사노비 락크 메론	<i>L. sporogenes</i>	$1 \times 10^8/cap$
남강제약	락티비스	<i>L. sporogenes</i>	$1 \times 10^8/cap$
수도약품	바시디우스	<i>L. acidophilus</i>	$1 \times 10^7/cap$
동구약품	벤투룩스	<i>Str. faecium</i>	$1 \times 10^6/cap$
한미약품	메디락비타	<i>Str. faecium</i>	$1.35 \times 10^8/g$
제일제당	바이스리	<i>Str. faecalis</i>	$5 \times 10^5/g$
한화제약	안티비오	<i>L. acidophilus</i>	$1 \times 10^7/g$
	필루스		
일양약품	앤디라제	<i>L. acidophilus</i>	$4.5 \times 10^6/g$
		<i>B. bifidum</i>	$3 \times 10^6/g$
		<i>Str. faecalis</i>	$4.5 \times 10^6/g$
동성제약	와카모도	<i>Str. faecalis</i>	$8.75 \times 10^6/T$

부분의 유산균 원료는 동결건조 방법으로 생산되지만 동결건조 조건에 의하여 생존율에 큰 차이를 나타내며 생산비가 높은 것이 결점이다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 혐기조건에서는 유산균의 특성을 가지나 특정한 호기조건에서 Spore를 형성하는 소위 유포자성 유산균(*Lactobacillus sporogenes*)을 이용한 제제가 개발되었다(4). Spore 상태로 생산되는 제제는 제조공정, 유통 과정에서 우수한 생존율을 나타내며 복용하였을 때 장내조건에서는 일반 유산균과 같은 특성을 나타내기 때문에 그 안정성이 특히 우수한 것으로 알려져 있다.

최근 항생물질 및 화학 요법제의 남용으로 장내 Microflora를 파괴시키는 경우가 많으며 이에 의한 여러가지 증상(균교대증 등)이 야기되고 있다. 이와 같은 증상의 예방 및 치료를 위하여 항생제 내성 유산균 제제가 다수 개발되어 있다. 이와 같은 제제에서 특히 주의할 점은 항생제 내성 유전자가 사용균종의 Plasmid에 존재하지 않고 Chromosome에 존재하여야 한다는 점이다. Plasmid의 항생제 내성 유전자는 다른 장내 세균에 전이될 가능성이 높기 때문에 이에 대한 충분한 연구·검토가

있어야 할 것이다.

2. 장내 Microflora에서 유산균의 역할

약 100여년전 Escherich가 장내 세균으로 처음 대장균을 검출한 후 혐기성균의 배양 기술이 개발되면서 수 많은 종류의 세균이 분리되었으며 장내 Microflora는 독특한 생태계를 만들고 있다는 사실이 밝혀졌다. 인간의 장내에 서식하고 있는 세균은 약 100여 종류가 검출되었고 그 수는 장 내용물 1g 당 약 1000억에 달하며 분변으로 배설된다. 분변 체적의 약 1/3 내지 1/2은 균체 덩어리라는 계산이다. 장내 세균의 대표적인 균종으로 알려진 대장균은 실제 총 균수의 1/1,000~1/10,000에 불과하며 혐기성균인 *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Bifidobacterium*이 우점종을 이루고 있다(5). 장내 Microflora는 식생활 등의 환경요인, 체내의 내적요인, 구성 균종간의 상호작용 등에 의하여 생태학적 천이를 거쳐 각자의 고유한 Microflora를 형성하게 된다. 이러한 개인의 독특한 Microflora는 소위 말하는 각 개인의 체질형성의 일부를 담당하게 되며 장내의 생리작용, 영양흡수, 발암, 노화, 그리고 각종 질병에 관계한다. 장내균과 숙주와의 상호관계를 요약하면 Fig. 1과 같다.

정상적인 장내 Microflora가 유지될 때는 다른 생태계에서와 마찬가지로 극상 Flora가 갖는 생태학적 배제 기구를 갖게되며 외부로부터 침입하여 오는 병원균의 증식을 억제하는 Microbarrier를 형성하고 있다. 그러나 영양의 불균형, 항생물질의 복용, 파로, Stress, 면역력 저하 등의 요인에 의하여 평형상태가 붕괴되면 병원균의 일부가 이상 증식하는 기회감염(Opportunistic infection)의 위험에 노출된다(6).

정상적인 장내 Microflora의 유지에는 유익균으로 알려진 *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* 등의 유산균이 절대적인 역할을 담당하게 된다. 예를 들면, 항생제 투여시 야기되는 소아난치성 설사증은 장내 Microflora에서 유산균군이 현저히 감소하며 대장균군, 장구균 등이 크게 증가하는 특징을 나타낸다. 이러한 설사증은 통상의 처방으로는 치료가 불가능하지만 유산균군의 투여에 의하여 근본적인 치료가 가능하다(7). 이와 같은 결과는 유산균군의 투여에

의하여 장내 Microflora가 정상으로 회복된다는 사실을 의미한다.

장내 Microflora를 구성하고 있는 세균 중에는 발암성 인자로 알려진 아미노산 대사산물(Indole, Phenol 등), N-nitroso 화합물(Nitrosamine 등), 담즙산 대사산물(Deoxycholic acid, Lithocholic acid 등), Ammonia, H₂S 등의 장내 부패산물을 생성하는 유해균종(*Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, 대장균 등)이 있다(8). 이들의 장내 대사 산물은 직접적인 변이원물질 또는 발암물질로 작용할 수도 있으며 발암 보조 물질로 작용할 수도 있다(Fig. 2). 건강한 성인에 유산균을 연속 투여하였을 때 대변 중의 Microflora의 변화, 뇨중 Indican(간장에서 Indole이 분해되어 생성되는 물질) 및 Phenol류의 변화를 조사한 결과 유산균 수는 1g 당 10⁶에서 10⁸으로 증가하였으며 Indican과 Phenol은 현저히 감소하였다(10). 또한 건강한 유아와 성인에 유산균을 연속 섭취시켰을 때 *Bacteroides*와 같은 유해균의 감소, 뇨중 Indican의 감소, 대변 중의 수분함량 증가, 암모니아 함량의 감소 등이 관찰되었다(11).

이와 같은 실험 결과에서 유산균의 섭취가 장내 Microflora의 정상화, 장내 물질대사의 조절, 대변 성상의 개선 등에 효과가 있다는 사실을 알 수 있다.

3. 유산균의 새로운 약리작용의 연구와 신규의약품 개발의 가능성

정장제로서의 유산균의 효능은 발효산물의 유효한 작용, 장내 Microflora의 일원으로서의 역할, 장내 물질대사에서 갖는 유산균의 유익한 조절 작용 등에 기인한다는 사실을 검토하였다. 그러나 최근 유산균의 새로운 약리작용으로 혈중 Cholesterol의 저하 효과, 면역력 증강 작용이 밝혀짐에 따라 새로운 종류의 유산균 의약품 개발의 가능성이 높아지고 있다.

1) 유산균의 혈중 Cholesterol 저하 효과

Africa Maasai족은 고농도의 Cholesterol을 섭취함에도 불구하고 야생 *Lactobacillus*가 다량 함유된 유산균 발효유를 상용하기 때문에 다른 종족보다 오히려 낮은 혈중 Cholesterol치를 나타낸다고 보고되었다(12). 그 후 인체 및 Rabbits나 Piglets에서 유산균 발효유의 섭취가 혈중 Cholesterol치의 저하

장내균과 숙주와의 상호관계

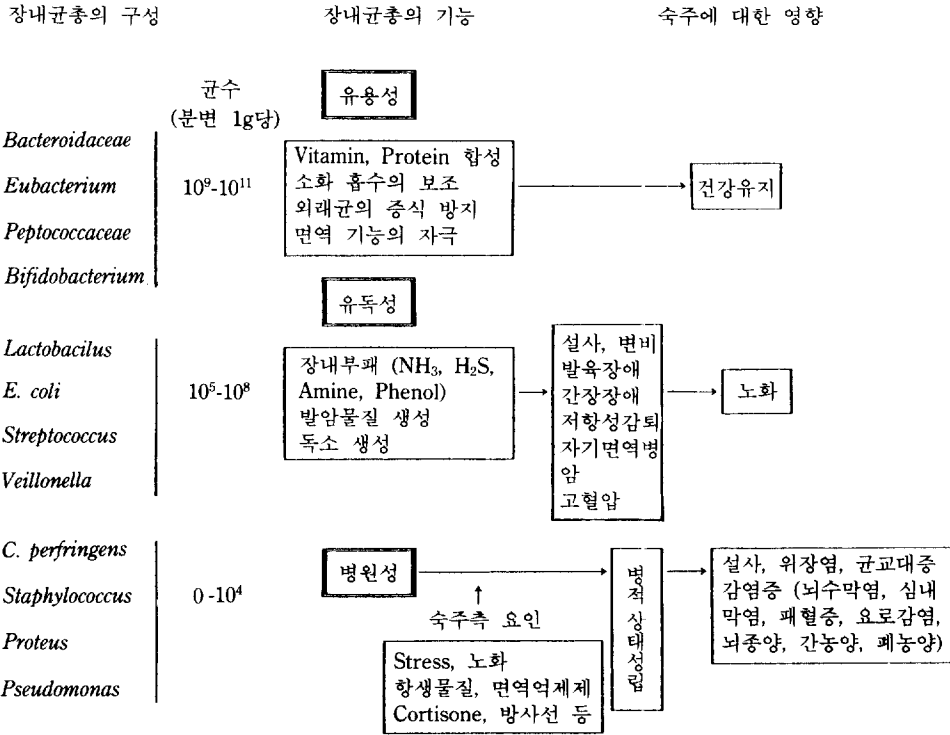


Fig. 1. 장내 세균과 숙주와의 상호 관계(6).

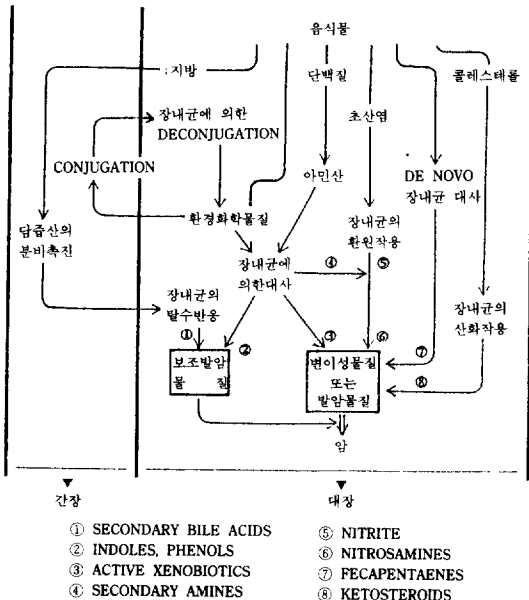


Fig.2. 장내 세균에 의하여 생성되는 발암관련 물질(9).

작용을 갖는다는 많은 보고가 있었다(13-15).

필자의 연구실에서는 유산균 정장제에 사용되는 *Lactobacillus sporogenes* 균 원료를 Rabbits에 투여 하였을 때 혈중 Cholesterol 농도가 현저히 저하된다는 사실을 확인하였다(16). Rabbits에 Cholesterol 및 *L. sporogenes* 균원료를 투여하였을 때, Cholesterol과 유산균 원료를 동시에 투여한 시험군에서는 Cholesterol만 투여한 시험군보다 혈중 Cholesterol의 상승이 현저히 억제되었다(Fig. 3). 이와 같은 효과는 *L. sporogenes* 균 원료의 투여 양에 비례하여 2.0% 투여군에서 혈중 Cholesterol 농도의 증가는 90% 이상 억제되었다. 유산균 또는 유산균 발효유가 혈중 Cholesterol 농도를 저하시키는 작용기작으로는 HMG(3-Hydroxy-3-methyl glutarate) 또는 Orotic acid에 의한 체내에서의 Cholesterol 합성저해(17, 18), Cholesterol oxidase에 의한 생체내 분해(19), 유산균의 체내 Cholesterol assimilation 작용(20)

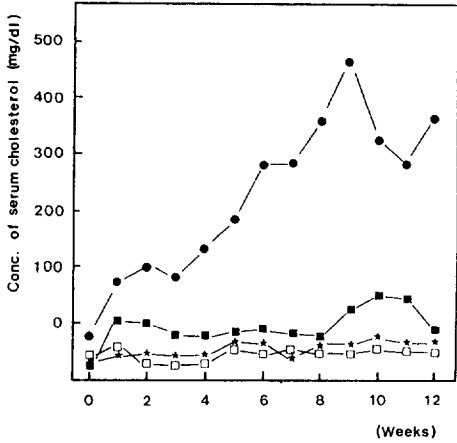


Fig. 3. The influence of feeding *L. sporogenes* preparations on serum cholesterol levels in the rabbits. □-□; Control, ●-●; Cholesterol 0.3%, ■-■; Cholesterol 0.3% + *L. sporogenes* preparation 1.0%, ★-★; *L. sporogenes* preparation 1.0%.

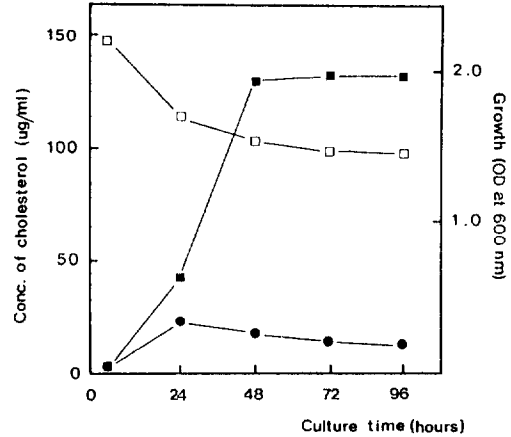


Fig. 4. The assimilation of cholesterol by *L. sporogenes* grown anaerobically in MRS broth containing PPLO serum fraction (Difco) as cholesterol source. ●-●; Conc. of cholesterol in cells, □-□; Conc. of cholesterol in supernatants, ■-■; Growth.

등이 보고되어 있다. 발효유에 비하여 생우유는 Cholesterol 저하 효능이 거의 없으며 발효유 중의 HMG와 Orotic acid의 함량이 생우유보다 높지 않기 때문에(21), 이들이 저하 요인으로 생각되지는 않는다. 또한 *L. sporogenes* 균에서는 Cholesterol oxidase 역가가 나타나지 않기 때문에 생체내 분해의 가능성도 없다. 그러나 *L. sporogenes*를 Cholesterol원으로 PPLO Serum fraction을 첨가한 액체 배지에서 배양하였을 때 균체내 Cholesterol 농도가 증가하고 배양액 중의 농도는 감소하는 실험결과(Fig. 4)에서 이 균의 Cholesterol 저하효과는 균체내 Cholesterol assimilation 작용에 기인함을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 *L. sporogenes*의 지속적인 투여가 장관 내에서 외부로부터 섭취한 Cholesterol을 균체내에 축적함으로써 외인성 Cholesterol에 의한 혈중 Cholesterol치의 상승을 효과적으로 억제할 수 있으며, Hypercholesteremia, 동맥경화증, 기타 심장혈관계 질환의 증상을 완화시키거나 예방할 수 있을 것으로 생각된다.

2) 유산균의 면역부활작용 및 항암효과

앞에서는 장내 유산균이 다른 장내세균들에 의하여 생성되는 발암물질에 대한 억제 기능을 갖는다는 사실을 검토하였다. 본 항에서는 유산균이 갖는 면역력 증강 작용 및 이에 의한 항암효과에 대하여 고찰하고자

한다. 면역력 증강효과를 갖는 미생물에 대한 연구는 *Streptococcus pyrogenes*(22), *Mycobacterium bovis* BCG(23), *Corynebacterium parvum*(24), 등에서 보고되었다. 이들 중에는 이미 항암제로 제제화되어 발매되고 있는 것도 있으며 현재 임상시험 중인 것도 있다. 이와 같은 면역 부활작용을 갖는 천연물은 최근 임상계에서 새롭게 주목을 받고 있는 BRM (Biological Response Modifier)의 일종으로 Primary BRM이라고도 한다.

비병원성이며 장내에 서식하면서 여러가지 유익한 작용을 갖는 유산균에 대하여서도 면역력 증강작용 및 항암 효과가 있다는 사실이 몇 종의 유산균에서 이미 보고되었다(25, 26). 필자의 연구실에서는 국내에서 발매되고 있는 유산균 정장제, 발효유, 기타 발효 식품에서 분리한 *Lactobacilli*에 의한 항종양 효과를 조사하였다. ICR Mouse에 Sarcoma-180을 피하 및 복강 주사한 후 유산균체를 5일 동안 같은 방법으로 주사한 후 Tumor의 성장 및 Mouse의 사멸율을 조사한 결과는 Table 3 및 Fig. 5와 같았다. 이와 같은 효과는 *in vitro*에서 Sarcoma-180에 유산균체를 직접 작용시켰을 때 종양세포의 증식에 영향을 없으며, *in vivo*에서 Cell-mediated action에 의한 BRM으로서의 효과에 의한 것임을 알 수 있었다. 면역부활 작용의 기작을 알아보기 위하여 ICR

Table 3. Effect of subcutaneous administration of *Lactobacilli* on the growth of Sarcoma-180 inoculated subcutaneously.

Isolate	Dose (mg/mouse × 5)	Tumor size (mm ² , mean ± SD)	Inhibition rate(%)
Control (Saline)	0	520 ± 95	—
KJ-2	0.1	355 ± 57	32
	1.0	311 ± 71	40
IB-3	0.1	286 ± 50	45
	1.0	167 ± 54	68
IT-1	0.1	306 ± 46	41
	1.0	140 ± 43	73
HY-2	0.1	252 ± 95	52
	1.0	84 ± 55	84

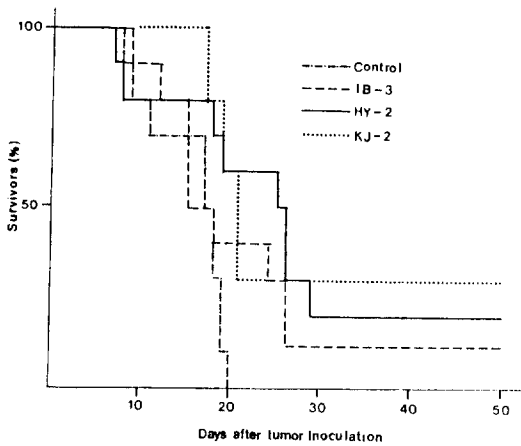


Fig. 5. Effect of intraperitoneal administration of *Lactobacilli* on the survival of ICR mice transplanted intraperitoneally with sarcoma-180.

Table 4. Effect of *Lactobacilli* on the phagocytic activity and acid phosphatase activity of peritoneal macrophages in mice.

Isolate	Phagocytic activity (SRBC/macrophage)	Acid phosphatase activity (units/mg protein)
Saline	0.12	23.8
IB-3	1.69	47.6
HY-2	1.20	71.1

Mouse에 유산균체를 투여하였을 때 Peritoneal macrophages의 Phagocytic activity와 Acid phosphatase activity를 조사하였다. Saline을 사용한 Control에서 보다 유산균 분리주를 투여한 시험군에서

Macrophage의 Phagocytic activity와 Acid phosphatase activity가 크게 증가됨을 알 수 있었다(Table 4). 또한 유산균 투여가 PEC(Peritoneal Exudate Cell)의 수를 크게 증가시킨다는 사실도 확인할 수 있었다.

이와 같은 연구결과는 우수한 유산균주의 선별, 유전공학 기법을 이용한 균주개발, 유효 성분의 분리 및 화학적 수식 등의 방법으로 보다 안전하며 유효한 새로운 종류의 면역부활제 또는 항암제를 개발할 수 있음을 시사해 주고 있다.

참고문헌

1. Metchnikoff, E.: The Prolongation of Life, G.P. Putnam's Sons. New York (1908).
2. 光岡知足: Symposium 「生物學療法의 話題」, 生物學療法研究會 (1988).
3. Mitsuoka, T. 등: *Am. J. Clin. Nutr.*, **30**, 1799 (1977).
4. 多田靖次 등: 日本特許公告 昭 36-18248 (1961).
5. Moore, W.E.C. 등: *Appl. Microbiol.*, **27**, 961 (1974).
6. Mitsuoka, T.: *Pharmacia*, **5**, 608 (1969).
7. 田中隆一郎: 腸内 Flora와 感染症, 日本學會出版 Center (1986).
8. Reddy, B.S. 등: *J. Nutr.*, **105**, 878 (1975).
9. 鈴木邦夫: 微生物學 (1985).
10. Tohyama, K. 등: *Microbiol. Immunol.*, **25** 101 (1981).
11. 田中隆一郎: 腸内 Flora와 發癌, 日本學會出版 Center (1984).
12. Mann, G.V. 등: *Am. J. Clin. Nutr.*, **27**, 464 (1974).
13. Mott, G.E. 등: *Lipids*, **8**, 528 (1973).
14. Pulusani, S.R. 등: *J. Food. Sci.*, **48**, 280 (1983).
15. Jepner, G. 등: *Am. J. Clin. Nutr.*, **32**, 19 (1979).
16. 석은경 등: 약학회지, **31**, 302 (1987).
17. Lupien, P.T. 등: *Atherosclerosis*, **18**, 407 (1973).
18. Bernstein, B.A. 등: *J. Dairy Sci.*, **59**, 539 (1986).
19. Watanabe, K. 등: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **32**, 137 (1986).
20. Gilliland, S.E. 등: *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**, 377 (1985).

21. Okonkwo, O.O. 등 : *Am. J. Clin. Nutr.*, **22**, 532 (1969).
22. Okamoto, H. 등 : *Japan J. Microbiol.*, **11**, 323 (1967).
23. Zbar, B. 등 : *J. Natl. Cancer Inst.*, **46**, 831 (1971).
24. Bomford, R. 등 : *Br. J. Cancer*, **32**, 551 (1975).
25. Kato, I. 등 : *Microbiol. Immunol.*, **27**, 611 (1983).
26. Oda, M. 등 : *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 1623 (1983).