



## *Lactobacillus acidophilus*의 장 상피세포에 대한 부착능력 및 장 출혈성 대장균의 부착 억제 능력

김영훈 · 박순옥 · 한경식 · 오세종<sup>1</sup> · 유승권<sup>2</sup> · 김세현\*

고려대학교 식품과학부, <sup>1</sup>전남대학교 동물자원학부,  
<sup>2</sup>고려대학교 생명유전공학부

### Adhesion Ability and Inhibition of Enterohemorrhagic *E. coli* O157:H7 Adhesion to Intestinal Epithelial Cells in *Lactobacillus acidophilus*

Young-Hoon Kim, Soon-Ok Park, Kyung-Sik Han, Se-Jong Oh<sup>1</sup>,  
Seung-Kwon You<sup>2</sup> and Sae-Hun Kim\*

Division of Food Science, Korea University,

<sup>1</sup>Department of Animal Science, Chonnam National University

<sup>2</sup>Division of Biotechnology & Genetic Engineering, Korea University

#### Abstract

The ability of probiotics containing *Lactobacillus acidophilus* to adhere to the intestinal epithelium may play an important role in colonization of the gastrointestinal tract and preventing enteric pathogen such as enterohemorrhagic *E. coli*(EHEC) O157:H7. In the study, we investigated the adhesion to human intestinal epithelial cells(HT-29) of strains of *L. acidophilus*(3 from human, 2 from pig, and 1 from calf). All of the tested strains of *L. acidophilus* were highly observed adhesion ability(from 10<sup>6</sup> to 10<sup>7</sup> cfu/mL), compared to *L. rhamnosus* GG as control. Also, adhered strains of *L. acidophilus* were significantly preserved in serial wash-out steps. However, no correlation could be observed between cell surface hydrophobicity and adhesion abilities of the tested strains of *L. acidophilus*. Inhibition of adhesion of EHEC O157:H7 was also examined, a 2 log cycle reduction was observed by all of the tested strains of *L. acidophilus*. These results suggest that the strains of *L. acidophilus* with high adhesion ability are resistant to wash-out and adhesion ability inhibition by selected strains of *L. acidophilus* helps to prevent adhesion of EHEC O157:H7 to intestinal epithelial cells.

**Key words** : adhesion, inhibition of EHEC adhesion, cell surface hydrophobicity, *Lactobacillus acidophilus*, EHEC O157:H7

#### 서 론

*L. acidophilus*를 포함하는 *Lactobacillus* 균주는 발효를 통해 젖산 및 여러 가지 대사 산물을 생산하는 균으로 각종 발효 식품, 의약품, 가축사료 첨가제 등의 제조에 광범위하게 이용되고 있으며 최근에는 건강증진 및 질병예방의 특징을 가지는 probiotics 균주의 연구와 적용이 증가하고 있다(Fuller,

1989).

이러한 probiotics의 선별에 있어서 내산성, 내담즙성, 박테리옌 생산능력, 콜레스테롤 저하능력 등 많은 선별기준이 존재하게 되는데 숙주 조직 내에 부착능력이 그중 하나이다. 이러한 부착능력은 장내군락형성에 있어서 선행조건으로 생각되어지고 있으며 이는 또한 면역조절기능에 있어도 중요한 역할을 한다. 유산균의 장 상피세포 부착능력을 결정하는 요인으로서 중요시 되는 것은 소화기관 내부의 복잡, 다양한 환경조건에 대한 적응력과 특정 host에 특정 균주들이 높은 수준으로 부착되는 host 특이성 등이 고려되고 있다(Yoon et al., 1984). 또한 소장 내부를 통과하는 장 내용물의 통과속도

\* Corresponding author : Sae-Hun Kim, Division of Food Science, Korea University, 5-1 Anam-dong, Sungbuk-gu, Seoul 136-701, Korea. Tel: 82-2-3290-3055, Fax: 82-2-3290-3506, E-mail: saehkim@korea.ac.kr

에 의해 장 상피세포에 부착된 상태에 있는 유산균이 분리되거나 균과 상피세포간의 물리적 결합을 유지할 수 있기 때문에 이러한 장 내용물의 통과속도는 장관 표면에서의 유산균 부착과정을 결정할 수 있는 중요한 요인으로 작용한다 (Ouweland et al., 1999; Yoon et al., 1984).

일반적으로 부착능력은 단독적인 요소에서 이루어지는 것이 아니라 세포간의 접촉과 세포막의 구성과 구조에 의한 영향, 그리고 세포 표면에 의한 영향 등 다양한 요소에 의해 이루어지게 된다고 보고되고 있으며(Perez et al., 1998), 이에 대한 분자생물학적 연구들이 계속되어 진행되고 있지만 아직까지 명확한 기작은 밝혀지지 않은 실정이다. 반면, 주로 세포 표면 소수성과 전기적 이동 등 주로 물리, 화학적 특성에 대한 연구가 주로 이루어져 왔다(Bussher et al., 1993; Crow et al., 1995). 하지만 이러한 보고들은 연구자에 따라 상반된 결과를 포함하고 있어 이러한 물리, 화학적 특성과 균의 부착능력의 관계는 보다 다양한 검토가 필요한 실정이다.

EHEC O157:H7은 미국과 일본 등 선진국에서 대량 식중독 사태를 일으킨 바 있으며 감염시 출혈성 요독 증후군(hemolytic uremic syndrome)과 출혈성 장염(hemolytic colitis) 등의 증상을 나타내며 특히, 면역능이 약한 유아나 노약자의 경우에는 사망에 까지 이르게 되는 치명적인 병원성 미생물로 알려져 있다 (Yang et al., 1999). 이러한 병원균의 치료를 위해 주로 항생제가 사용되고 있지만 병원성 미생물들의 항생제에 대한 내성이 증가하면서 최근 들어 probiotics에 의한 장내 균총 조절과 병원성 미생물 예방에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 하지만 이에 대한 병원성 미생물 억제에 대한 기작과 물질에 대한 규명은 아직 명확하게 밝혀져 있지 않아 이에 대한 연구가 시급한 실정이다.

본 실험에서는 다양한 근원의 *L. acidophilus* 균주를 이용하여 장 상피세포의 부착능력을 평가하고 소화기관에서의 장 내용물의 장 통과에 의한 미생물의 배출과 유사한 환경을 형성하기 위하여 높은 속도의 교반과정을 통한 세척을 실시하였다. 이러한 wash-out에 대한 저항성을 관찰하였고 세포표면 소수성과 부착능력간의 관계를 검토하였다. 또한 병원성 미생물의 예방 측면에서 이러한 *L. acidophilus* 균주의 EHEC O157:H7에 대한 부착 억제 능력을 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 사용균주, 배양조건 및 보존

본 실험에서 사용된 균주는 Table 1과 같이 고려대학교 유가공학 실험실에 보관중인 균주들과 ATCC(American Type Culture Collections)에서 분양받은 균주를 사용하였다. 유산균주는 MRS broth(Difco, USA)를 이용하여 37°C에서 18시간 3

Table 1. Bacterial strains in this study

No.	Bacterials	Source	Bacteriocidal activity <sup>b</sup>
1	<i>L. rhamnosus</i> GG	Human	Yes
2	<i>L. acidophilus</i> ATCC <sup>a</sup> 4962	Human	Yes
3	<i>L. acidophilus</i> 107A	Pig	Yes
4	<i>L. acidophilus</i> A4	Pig	Yes
5	<i>L. acidophilus</i> 606	Human	Yes
6	<i>L. acidophilus</i> 30SC	Calf	Yes
7	EHEC ATCC 43889	-	-

<sup>a</sup> ATCC, American type culture collection.

<sup>b</sup> The spent broth from cultures was aseptically placed on MRS agar inoculated with cells of *L. delbrueckii* subsp. *lactis* ATCC 4797 and bacteriocidal activity was indicated by clear inhibitory zone.

회 계대배양하여 사용하였고 EHEC ATCC 43889는 Tryptic Soy Broth(Difco, USA) 배지에 37°C에서 18시간 진탕배양 후 사용하였다. 모든 균주는 각각의 배지에서 배양 후 원심분리(2,000×g, 20 min)하여 균체만 회수한 후 탈지분유(10%), lactose(2%), yeast extract(0.3%)가 함유된 배지를 혼합한 후, 동결 건조시켜 -80°C에서 보관하면서 사용하였다. 부착능력 실험과 부착억제 실험을 위해 각 균주들은 10 mM phosphate-buffered saline(PBS; Sigma, USA)를 이용하여 3회 세척을 실시하고 사용하였다.

### 장 상피세포주 배양

본 연구에 사용된 장 상피세포는 HT-29로써 한국 세포주 은행(KCLB)에서 분양받아 사용하였다. HT-29 세포는 열 비활성화된 10% 우태아혈청(FBS), 1% L-glutamine, penicillin G (100 IU/mL), 그리고 streptomycin (100 mg/mL)이 첨가된 RPMI 1640(Gibco, USA) 배지를 이용하여 5% CO<sub>2</sub> 존재 하에 37°C에서 배양하였다. 부착능력 실험과 부착 억제 실험을 위해 HT-29 세포는 well당 1.0×10<sup>5</sup> cells/mL의 수가 되도록 24 well-plate에 분주하였고 격일로 배지를 교환하며 완전하게 monolayer를 형성할 때까지 배양하여 실험에 사용하였다.

### 유산균주의 장 상피세포 부착능력

완전 monolayer를 형성한 HT-29 세포는 25°C의 PBS buffer를 이용하여 5회 세척하고 항생제가 첨가되지 않은 RPMI 1640 배지 0.5 mL를 첨가하였다. 유산균주를 1.0×10<sup>9</sup> cfu/mL의 농도가 되도록 RPMI에 현탁한 다음 well plate에 접종하고 5% CO<sub>2</sub> 존재 하에 37°C에서 2시간 배양을 실시하였다. 배양이 완료된 후 부착되지 않은 유산균의 제거와 세척에 따른

부착능력을 확인하기 위해 3분씩 200 rpm의 속도로 교반하면서 PBS buffer를 사용하여 3회 세척을 실시하였다. 세척이 완료된 후 0.2% Trypsin-EDTA를 분주하여 부착되어 있는 세포를 떼어내고 peptone 수를 이용하여 연속희석법으로 MRS-agar에 평판 도말하고 37°C에서 24시간 배양하여 균수를 측정하였다. 일부 부착확인을 위하여 70% alcohol에 하루 정도 담구어 완전 살균된 cover glass를 petri-dish 바닥에 부착시킨 후 HT-29 세포를 배양하여 위와 동량의 유산균을 첨가하여 실험하였다. 세척에 의해 씻겨 내려가지 않고 HT-29에 부착된 유산균주는 건조한 뒤 Gram 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

#### 유산균주의 세포 표면 소수성 측정

유산균주의 세포표면 소수성은 Perez et al. (1998)의 방법을 이용하여 측정하였다. 즉, 배양된 유산균주를 원심분리하여 균체만 회수한 후 PBS를 이용하여 O.D<sub>600</sub>=1로 조정하였다. 유산균 현탁액은 0.4 mL의 xylene과 혼합한 후 2분간 vortexing하였다. 이후 상층의 수용액만 회수한 후 O.D<sub>600</sub>에서 흡광도를 측정한 후 다음 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{Cell surface hydrophobicity (\%)} = \frac{(\text{O.D}_{600} \text{ total bacterial suspension} - \text{O.D}_{600} \text{ upper suspension})}{\text{O.D}_{600} \text{ total bacterial suspension}} \times 100$$

#### 유산균주에 의한 EHEC ATCC 43889 균주의 장 상피세포 부착 억제

완전 monolayer를 형성한 HT-29 세포는 25°C의 PBS buffer를 이용하여 5회 세척하고 항생제가 첨가되지 않은 RPMI 1640 배지 0.5 mL를 첨가하였다. 유산균주를 1.0×10<sup>9</sup>cfu/mL의 농도가 되도록 PBS에 현탁한 다음 각 well plate에 접종하고 5% CO<sub>2</sub> 존재 하에 37°C에서 2시간 배양을 실시하였다. 배양이 완료된 후 부착되지 않은 유산균의 제거하기 위해 PBS buffer로 3회, 3분씩 200rpm의 속도로 교반하면서 세척을 실시하였다. 세척이 완료된 후 1.0×10<sup>7</sup> cfu/mL의 농도로 PBS에 현탁된 EHEC ATCC 43889 균주를 접종하고 다시 5% CO<sub>2</sub> 존재 하에 37°C에서 1시간 배양을 실시하였다. 부착되지 않은 EHEC ATCC 43889 균주를 제거하기 위해 PBS buffer로 3회, 3분씩 200rpm의 속도로 교반하면서 세척을 실시하였다. 세척이 완료된 후 0.2% Trypsin-EDTA를 분주하여 부착되어 있는 세포를 떼어내고 peptone 수를 이용한 연속희석법으로 Mac-Conkey-agar(Difco, USA)에 평판 도말하고 37°C에서 24시간 배양하여 균수를 측정하였다.

#### 통계분석

모든 실험은 3반복을 실시하였으며 실험결과는 SAS program을 이용하여 각 처리구간의 총균수의 차이를 p<0.05 수준에서 t-test를 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 유산균주의 장 상피세포 부착능력

장 상피세포 부착능력은 잠재적인 probiotics의 선별에 중요한 선별 요소로 생각되고 있다(Ouwehand et al., 1999a). 본 실험에 사용된 6종의 유산균주의 장 상피세포에 대한 부착능력은 Fig. 1과 같이 나타났다. 기존 많은 연구에 의해 장 상피세포에 높은 부착능력을 가지는 것으로 보고되고 있는 *L. rhamnosus* GG(LGG)와 비교했을 때 본 실험에서 사용된 5종의 *L. acidophilus*는 HT-29 세포에 높은 수준(10<sup>6</sup>~10<sup>7</sup> cfu/mL)으로 부착하는 것으로 나타났으며 Gram 염색을 통해 현미경으로 부착된 형태를 확인할 수 있었다(Fig. 2). 이는 5종의 *L. acidophilus*의 원천이 모두 다름에도 불구하고 모두 높은 수준의 부착능력이 나타난 것으로 이는 다양한 근원에서 분리한 유산균주의 Caco-2 cell에 대한 부착능력이 모두 다르게 나타났다는 보고(Jacobsen et al., 1999)와 유사한 결과를 나타낸 것으로 따라서 장 상피세포에 대한 부착능력이 host에 대한 특이성과는 높은 상관관계가 없는 것으로 생각된다.

장 상피세포에 부착된 probiotics는 소장에서 높은 유동속도를 고려했을 때 wash-out에 대한 저항성 또한 균락형성에 영향을 미치는 중요한 요인으로 연관하여 고려되어야 할 사항이다(Sanford, 1992). 본 실험에서 200rpm으로 3분씩 1회에서 3회까지 세척단계를 실시하여 wash-out에 대한 부착능력을 확인하였다. 그 결과 LGG와 비교했을 때 5종의 *L.*

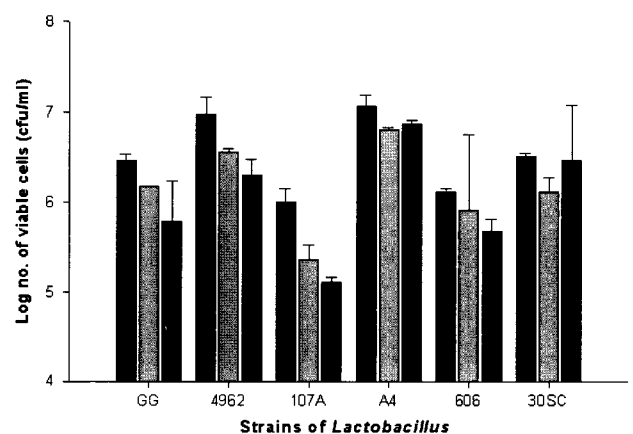


Fig. 1. Adhesion abilities of the strains of five *L. acidophilus* during washing at 200 rpm for 3 min from one to three times (black bar : 1st washing, grey bar : 2nd washing, dark-grey bar : 3th washing).

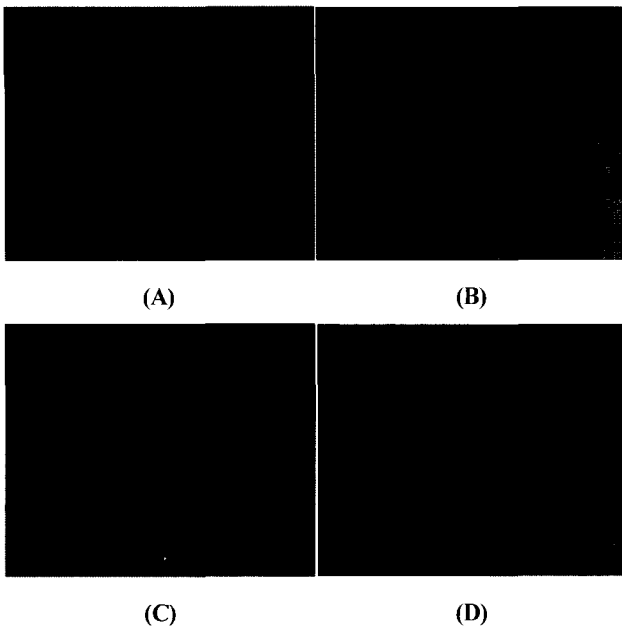


Fig. 2. Microscopic views of adhesion to HT-29 cells after washing steps. (A) *L. acidophilus* A4, (B) *L. acidophilus* ATCC 4962, (C) *L. acidophilus* 107A, (D) *L. rhamnosus* GG.

*acidophilus* 모두  $10^5$  cfu/mL까지 부착능력이 유지되는 것으로 나타났다(Fig. 1). 따라서 본 실험에서 사용된 5종의 *L. acidophilus*는 wash-out에 대한 저항성이 비교적 높은 것으로 확인되었으며 이후 장 내용물의 통과속도와 더 유사한 환경을 설정함으로써 보다 명확한 결과를 확인할 예정이며 이러한 높은 저항성과 관련하여 유산균의 군락형성과 장 상피세포의 면역 증강작용에 대한 실험이 추가적으로 실시되어야 할 것으로 생각된다.

유산균주의 세포 표면 소수성 측정

세포표면 소수성은 *Lactobacillus*와 *Bifidobacterium* 등을 포함하는 유산균주의 부착능력을 확인하는데 있어 자가 응집 능력(autoaggregation)과 함께 1차 선별방법 중 하나로 사용되고 있다(Del Re et al., 2000; Perez et al., 1998). 본 실험에서도 장 상피세포에 대한 부착능력과 세포 표면 소수성과의 상관관계를 알아보기 위해 xylene을 이용하여 세포 표면 소수성을 측정하였다(Fig. 3). 기존보고에 따르면 Savage 등(1992)은 murine gastric mucosa를 이용하여 *Lactobacillus*의 부착능력과 세포표면 소수성의 관계를 측정한 결과 어떠한 상관관계도 관찰할 수 없었다고 보고하였으며 Ouwehand 등(1999)은 intestinal mucus를 이용하여 유산균의 부착능력과 세포 표면 소수성과의 관계를 관찰하였을 때 부착능력이 우수하게 나타난 4종의 균주는 세포표면 소수성이 18% 미만으로 나타났으며 이중 가장 높은 부착능력을 나타낸 LGG의 경우 9% 정

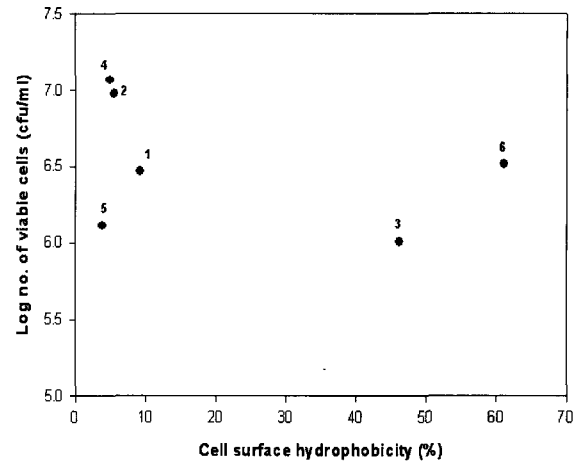


Fig. 3. Correlation of adhesion ability and cell surface hydrophobicity as determined by partitioning to xylene. The numbers correspond to the strains as indicated in Table 1.

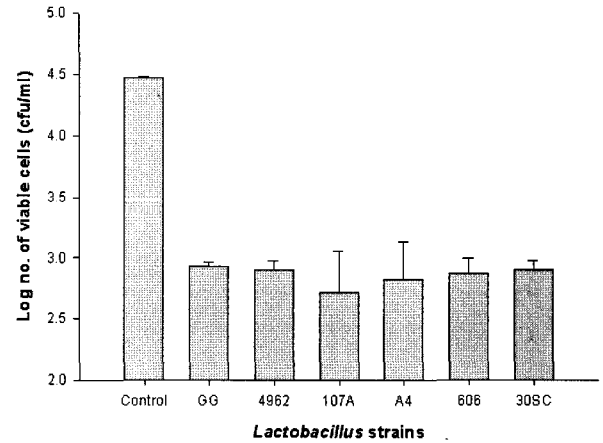


Fig. 4. Inhibition of EHEC Adhesion to HT-29 cells by the strains of five *L. acidophilus*. The *L. rhamnosus* GG was used as control. EHEC adherent cells were quantified by determining cfu/ml.

도를 나타내었다고 보고하였다. 반면 Kim(2001)은 *Bifidobacteria*의 경우 세포 표면 소수성이 80% 이상 관찰된 균주에서 높은 부착능력이 나타난다고 보고하였으며 Wadström 등(1987)은 porcine의 소장에서 분리하여 porcine의 상피세포에 높은 부착능력을 나타낸 *Lactobacillus* 균주를 대상으로 세포 표면 소수성을 측정한 결과 모두 높은 소수성을 나타냈으며 이들은 높은 상관관계가 있다고 보고하였다.

본 실험에서는 LGG를 포함한 5종의 *L. acidophilus* 세포표면 소수성은 60% 이하로 측정되었으며 특히 부착능력이 우수하다고 보고된 LGG의 경우 9% 정도로 낮은 소수성을 나타내는 것으로 측정된 바 Savage 등(1992)과 Ouwehand 등(1999)의 보고와 유사한 결과를 관찰할 수 있었으며 부착능력과 세포표면 소수성은 높은 상관관계를 나타내지 않는 것

으로 나타났다. 따라서 세포표면 소수성은 유산균의 부착능력을 검증하는 1차 선별방법으로 적합하지 않는 것으로 생각된다.

최근 들어 세포표면 소수성 이외에 유산균주와 장 상피세포의 결합과 연관된 다양한 수용체에 대한 연구가 계속되면서 Coconnier 등(1992)은 *L. acidophilus*의 발효산물 중 부착을 유도하는 단백질성분이 존재하는 것을 보고하였으며, 또한 유산균주의 표면에 존재하며 하나 또는 여러 가지 당단백질로 구성된 S-layer protein도 유산균주의 부착능력에 중요한 요소라고 보고되고 있다(Schneitz et al., 1993). 따라서 유산균주의 장 상피세포 부착능력을 평가하기 위해서는 세포표면 소수성 이외에 다양한 유산균주의 표면 단백질의 특성과 수용체에 관한 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

#### 유산균주에 의한 EHEC ATCC 43889 균주의 장 상피세포 부착 억제

최근 들어 Probiotics를 이용한 *Salmonella typhimurium*, 병원성 *E. coli*, *Campylobacter jejuni*, 그리고 *Clostridium difficile* 등 다양한 병원성 미생물의 예방 및 억제 효과에 대한 보고가 계속되고 있다(Matter et al., 2002). 특히, EHEC O157:H7과 관련하여 Mark 등(1999)은 LGG와 *L. plantarum* 299v의 균체와 상등액을 이용하여 EHEC O157:H7의 부착 억제능력을 평가한 결과 대조구와 비교했을 때 1 log 미만의 억제능력을 보였다고 보고하였다.

Probiotics에 의한 병원성 미생물의 부착억제 효과는 크게 네가지 작용기작에 의해 나타난다고 보고되고 있다(Matter et al., 2002). (1) 젖산과 같은 산 생성에 의한 장관 내 pH의 저하, (2) 병원성 미생물에 직접적으로 작용하는 항균물질, 즉 박테리오파지와 같은 물질의 생산, (3) 병원성 미생물과 장 상피세포 결합 및 수용 부위에 대한 경쟁, 그리고 (4) 장 상피세포의 면역기능 자극이 그것이다. 최근 들어 이러한 보고 이외에 장 상피세포가 분비하는 mucin이 병원성 미생물의 부착을 강력하게 억제하는 것으로 알려지면서 이와 유사한 당성분의 단백질 및 지방성분과 이들의 분비를 촉진하는 유산균 유래 물질에 대한 연구가 계속되고 있다(Mack et al., 1999).

본 실험에서는 LGG를 포함한 5종의 *L. acidophilus*가 모두 2 log 수준의 부착 억제 능력을 나타냈다(Fig. 4). 이는 명확하지는 않지만 본 실험에 사용된 *L. acidophilus*이 생성하는 박테리오파지의 생성, 장 상피세포가 분비하는 mucin과 유사한 당단백질 물질 또는 mucin의 분비 촉진 물질의 생성, 젖산의 생성에 의한 pH 저하 등 다양한 요인에 의한 것으로 추정되며 이에 대한 추가 실험이 진행되어야 할 것으로 생각된다.

#### 요 약

최근 들어 건강에 대한 관심이 증대되면서 건강증진과 관련된 많은 probiotics 균주들의 선별에 대한 연구가 계속해서 진행되고 있다. *L. acidophilus*를 포함하는 probiotics 중 장 상피세포에 부착력이 우수한 균종들이 보고되고 있으며 이들은 병원성 미생물을 예방하는데 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다. 본 실험에서는 HT-29 cell을 대상으로 다양한 근원으로부터 분리된 *L. acidophilus*의 부착능력을 측정하였다. 부착능이 우수하다고 보고된 LGG를 대조구로 부착능력을 평가하였을 때 5종의 *L. acidophilus* 모두 LGG와 유사한 부착능력을 나타내었으며 *L. acidophilus* A4의 경우 가장 높은  $1.2 \times 10^7$  cfu/ml의 부착능력을 보였다. 따라서 장 상피세포에 대한 부착능력이 host에 대한 특이성과는 높은 상관관계가 없는 것으로 생각된다. 또한 부착된 유산균을 3분씩 3회 연속 wash-out을 실시하였을 때 모두  $10^5$  cfu/mL 이상의 부착능력을 유지하였다. 그러나 이러한 probiotics의 부착능력과 세포표면 소수성의 상관관계를 관찰하였을 때 어떠한 유의성도 나타나지 않았다. 따라서 본 실험에서 사용된 5종의 *L. acidophilus*의 경우 세포표면 소수성에 의해 부착능력이 나타나는 것이 아니라 다른 기작에 의해 부착능력이 나타나는 것으로 생각된다.

그리고 5종의 *L. acidophilus*를 대상으로 EHEC ATCC 43889의 장 상피세포 부착억제능력을 측정하였을 때 5종 모두 대조구와 비교했을 때 EHEC의 부착을 2 log 수준으로 억제하는 것으로 나타났다. 명확하지는 않지만 이는 일부 유산균주의 부착능력과 관계가 있는 것으로 생각되며 또한 유산균이 생성하는 발효산물이나 세포표면 단백질에 의해 영향을 받는 것으로 생각된다.

#### 감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업의 지원에 의하여 연구되었기에 이에 감사드립니다(02-PJ1-PG3-22005-0018).

#### 참고문헌

1. Busscher, H. J., Greertsema, G. I., and van der Mei, H. C. (1993) On mechanism of oral microbial adhesion. *J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl.* **74**, 136S-146S.
2. Coconniers, M. H., Klaenhammer, T. R., Kerneis, S., Bernet, M. F., and Servin, A. L. (1992) Protein-mediated adhesion of *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4 on human enterocyte and mucus-secreting cell lines in culture. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**(6), 2034-2039.

3. Crow, V. L., Gopal, P. K., and Wicken, A. J. (1995) Cell surface differences of lactococcal strains. *Int. Dairy J.* **5**, 45-68.
4. Del Re, B., Sgorbati, B., Miglioli, M., and Palenzona, D. (2000) Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. *Lett Appl. Microbiol.* **31**(6), 438-442.
5. Fuller, R. (1989) Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.* **66**, 365-378.
6. Jacobsen, C. N., Rosenfeldt, N. V., Hayford, A. E., Moller, P. L., Michaelsen, K. F., Paerregaard, A., Sandstrom, B., Tvede, M., and Jakobsen, M. (1999) Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by *in vitro* techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 4949-4956.
7. Mark, D. R., Michail, S., Wei, S., McDougall, L., and Hollingsworth, M. A. (1999) Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence *in vitro* by inducing intestinal mucin gene expression. *Am. J. Physiol.* **276**, 941-950.
8. Matter, A. F., Teitelbaum, D. H., Drongowski, R. A., Yongyi, F., Harmon, C. M., and Coran, A. G. (2002) Probiotics up-regulate MUC-2 mucin gene expression in a Caco-2 cell-culture model. *Pediatr. Surg. Int.* **18**, 586-590.
9. Ouweland, A. C., Kirjavainen, P. V., Grönlund, M. M., Isolauri, E., and Salminen, S. J. (1999) Adhesion of probiotic micro-organism to intestinal mucus. *Int. Dairy J.* **9**, 623-630.
10. Perez, P. F., Minnaard, Y., Disalvo, E. A., and De Antoni, G. L. (1998) Surface properties of bifidobacterial strains of human origin. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**(1), 21-26.
11. Sanford, P. A. (1992) Digestive system physiology. Edward Arnold, London, pp. 104-107.
12. Savage, D. C. (1992) Growth phase, cellular hydrophobicity, and adhesion *in vitro* of lactobacilli colonizing the keratinizing gastric epithelium in the mouse. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 1992-1995.
13. Schneitz, C., Nuotio, L., and Lounatma, K. (1993) Adhesion of *Lactobacillus acidophilus* to avian intestinal epithelial cells mediated by the crystalline bacterial cell surface layer (S-layer). *J. Appl. Bacteriol.* **74**(3), 290-294.
14. Wadström, T., Andersson, K., Sydow, M., Axelsson, L., Lindgren, S., and Gullmar, B. (1987) Surface properties of lactobacilli isolated from the small intestine of pigs. *J. Appl. Bacteriol.* **62**, 513-520.
15. Yoon, Y. H., Jeong, E. B., and Yoon, K. B. (1984) Studies on adhesion of lactic acid bacteria to epithelial cells. *Korea J. Dairy Sci.* **6**(2), 142-150.
16. Yang, S. J., Yoon, J. W., Seo, K. S., Koo, H. C., Kim, S. H., Bae, H. S., Baek, Y. J., and Park, Y. H. (1999) Prophylactic Effects of *Bifidobacterium longum* HY8001 against *Escherichia coli* 0157:H7 and *Salmonella typhimurium* DT104 Enteric Infection and Evaluation of Vero Cytotoxin Neutralizing Effects. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **27**(5), 419-425.
17. Kim, E. Y. (2001) Adherence competition of bifidobacteria to Caco-2 and MA-104 cell with *Escherichia coli* 0157:H7 and rotavirus. *Thesis for Doctor of Philosophy. Konkuk University.*

---

(2003. 11. 24. 접수 ; 2004. 2. 3. 채택)