

## 김치에서 분리한 *Lactobacillus plantarum* CIB 001 균여가 고콜레스테롤혈증 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향

차상도 · 유지원 · 김태운<sup>1</sup> · 조호성<sup>2</sup> · 이동희\*

(주)셀인바이오 생물소재연구소, <sup>1</sup>세계김치연구소 R&D본부, <sup>2</sup>전북대학교 수의학과

### Effects of *Lactobacillus plantarum* CIB 001 on Lipid Metabolism of Hypercholesterolemic Rats

Sang Do Cha, Ji Won Yu, Tae Woon Kim<sup>1</sup>, Ho Seong Cho<sup>2</sup>, and Dong Hee Lee\*

Biomaterials Research Center, Cellinbio

<sup>1</sup>R&D Division, World Institute of Kimchi

<sup>2</sup>College of Veterinary Medicine and Veterinary Diagnostic Center, Chonbuk National University

**Abstract** The aim of the present study was to assess the anti-hypercholesterolemic effect of bile salt hydrolase-producing *Lactobacillus plantarum* CIB 001 (KCTC 11717 bp) in rats fed a high-cholesterol diet. Four treatment groups of rats (n=5) were fed experimental diets: a normal diet (ND), a ND plus *L. plantarum* CIB 001 (NDL) at 5.0-7.5×10<sup>9</sup> colony forming unit (CFU)/day, a high-cholesterol diet (HCD), as well as a HCD plus *L. plantarum* CIB 001 (HCDL) at 5.0-7.5×10<sup>9</sup> CFU/day for 6 weeks. Compared with the HCD group, the HCDL group demonstrated a decrease in serum triglyceride (p<0.05), total cholesterol (p<0.05), and the corresponding HDL-cholesterol concentration increased at a rate of 40% (p<0.05). The HCDL group also induced a decrease in liver inflammation and steatosis. The present results suggest that supplementation of *L. plantarum* CIB 001 can have short-term (6 weeks) effects on blood lipids and liver injury, as well as on the atherogenic index and cardiac risk factors.

**Keywords:** *Lactobacillus plantarum* CIB 001, cholesterol-lowering, high-cholesterol diet, blood lipids

## 서 론

현대사회의 서구화된 식생활 양상인 빈번한 동물성 식품의 섭취로 지질섭취가 증가하였고 이로 인해 유발되는 고지혈증으로 인한 동맥경화, 뇌졸중, 심근경색증, 협심증 등 심혈관계 질환의 발병 위험이 증가되고 있다(1). 특히, 지질성분 중 콜레스테롤이 정상 이상으로 증가하여 고콜레스테롤혈증을 유발하는 경우가 많고 심근경색을 일으킬 위험이 3배나 높게 나타난다. 세계보건기구(World Health Organization, WHO)에서는 지방과 염분의 과다 섭취, 탄수화물과 과체류의 적은 섭취는 우리 몸에 유해하며 심혈관 질환의 발병 위험을 증가시킨다고 보고하였다(2). 이는 식생활의 습관이 주요 원인인 것으로 알려져, 혈중 콜레스테롤 농도를 저하시켜 고지혈증을 예방하고 관리하는 방안으로 저지방 및 저콜레스테롤 식품을 섭취하고 섬유소와 불포화지방산 등이 함유된 식품을 섭취하는 것이 권장되고 있다(3-5). 최근에는 전통 발효식품으로부터 혈중 지질 농도를 감소시키고자 하는 연구와 생리활성을 가지는 기능성 식품에 대한 관심이 높아지고 있다(6-12). 유산균은 산업적으로 빈번하게 이용되고 있고 전통적으로 다

양한 발효식품에 함유되어 오래전부터 식용되어 온 GRAS(Generally Recognized As Safe)로 안전하며, 유산균의 섭취는 인간의 장속에서 미생물들이 음식물의 소화, 흡수, 분해, 배설 등을 돕는 유익균들의 증가를 유도하는 효과적인 방법으로 권장되고 있다. 최근에는 유산균의 면역시스템 자극을 통한 바이러스 방어유전자의 발현 증가(13), 복합유산균의 섭취로 염증성 면역반응의 선택적인 억제(14), 혈중 콜레스테롤의 저하효과(15,16)와 같이 유산균의 특수한 약리학적 장점들이 알려지고 있다. 이러한 유산균의 여러 기능 중에서 담즙산 탈포합(bile salt hydrolase, BSH) 활성으로 유도되는 담즙산의 유실로 인해 혈중 콜레스테롤 농도를 낮추는 능력은 이미 여러 선행연구를 통해 잘 알려져 있다(8,17-19). 최근에 저자들은 *in vitro* 실험에서 담즙산 탈포합 활성이 우수한 균주를 김치에서 분리하여 산업적으로 이용하고자 하였다(20). 본 연구에서는 *in vitro* 실험에서 우수한 BSH 활성을 보인 *Lactobacillus plantarum* CIB 001 균주를 건강기능식품에 주로 이용되는 형태로 제조하고 고지혈증 유발 흰쥐에게 급여하여 콜레스테롤을 저하시키는 효과를 규명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 유산균 분말의 제조

본 실험에 사용된 CIB 001(*Lactobacillus plantarum* CIB 001, KCTC 11717BP) 균주는 (주)셀인바이오(Suwon, Korea)에서 보관 중인 균주를 사용하였으며, 유산균을 발효조에서 배양하여 내부 압력이 0.5 kg/cm<sup>2</sup> 이상이 되도록 공기를 지속적으로 주입시키며

\*Corresponding author: Dong Hee Lee, Biomaterials Research Center, Cellinbio, Suwon, Gyeonggi 443-734, Korea  
Tel: 82-31-695-7955  
Fax: 82-31-695-7986  
E-mail: leedh@cellinbio.co.kr  
Received December 20, 2011; revised March 23, 2012; accepted April 17, 2012

자연냉각 시킨 후 원심분리기를 이용하여 균체를 회수한 다음 트레할로스, 말토크스트린, 탈지분유로 구성된 보호제와 함께 수직 혼합기에 투입하여 20분간 균질하게 혼합해 1차 코팅을 하였다. 1차 코팅 후 옥수수 전분을 부형제로 하여 유산균수가 1.0-1.5×10<sup>11</sup> CFU/g이 함유되도록 동결건조하여 분말화하고 균질하게 분쇄하여 제조하였다. 제조된 유산균분말은 밀봉시켜 4°C에 보관하면서 시료로 사용하였다.

**실험동물의 식이조성 및 사육**

실험동물은 생후 3주령 된 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 (주)대 한바이오링크(Seoul, Korea)로부터 분양받아 시험 시작 전 1주일 간 동안 일반 고형배합사료로 적응시킨 후 실험하였다. 실험식이의 조성은 Table 1과 같으며, 4주 동안 10마리의 흰쥐에게는 고 콜레스테롤 식이를 공급하였고, 나머지 10마리의 흰쥐에게는 일반사료를 공급하였다.

난괴법(randomized block design)에 따라 각각의 식이그룹에서 5마리씩 2그룹으로 나누었고 실험군은 일반사료-정상식이군(normal diet group, ND), 일반사료-유산균 식이군(normal diet supplemented with L. plantarum CIB 001 group, NDL), 고콜레스테롤

사료 식이군(hypercholesterolemic diet group, HCD), 고콜레스테롤 사료-유산균 식이군(hypercholesterolemic diet supplemented with L. plantarum CIB 001 group, HCDL)으로 하였다. 실험군당 실험 동물은 cage당 2마리와 3마리씩 분리하여 총 5마리를 6주간 사육하며 실험하였다. 실험동물들은 온도 25±2°C, 습도 50±5%, 명암주기 12시간(08:00-20:00)으로 자동 설정된 동물실험실에서 사육하였고 식이는 하루에 한번씩 평균적인 섭취량에 따라 제한적으로 공급하였으며 식수는 자유롭게 섭취하도록 하였다. 유산균 식이군은 유산균분말 1g을 10 mL의 식수에 부유시켜 10분간 균질하게 혼합한 후, 경구용 바늘(oral feeding needle)을 이용하여 매일 500 µL를 투여하여 5.0×10<sup>9</sup>-7.5×10<sup>9</sup> CFU/day의 유산균을 섭취하도록 하였으며, 비유산균 식이그룹에도 동량의 식수를 경구 투여하였다.

사육기간 중 실험동물의 체중은 1주 간격으로 측정하였으며, 식이량은 3일마다 동일한 시간에 식이급여량과 잔량을 측정하여 산출하였고, 식이효율(food efficiency ratio, FER)은 실험기간 중 식이섭취량에 대한 체중 증가량(체중증가량(g)/식이섭취량(g))으로 계산하였다.

**실험동물의 혈청시료 수집 및 분석**

6주간의 실험사육기간 중 2주마다 안와채혈법으로 혈액을 채취하여 2,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 얻은 후 시판되는 Cholesterol E-test kit(Wako Co., Osaka, Japan)를 사용하여 총 콜레스테롤을 측정하였으며, 6주의 실험사육기간이 끝난 실험 동물은 종료시기에 12시간 동안 절식시킨 후 Zoletil과 Rompun을 3:2 비율로 혼합하여 50 µL/100 g의 용량으로 마취하고 개복한 후, 심장관자침으로 좌심실에 주사기를 삽입하여 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 2,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 얻은 후 의뢰법인 이원의료재단(Eone Reference Laboratory, Seoul, Korea)에 의뢰하여 중성지방(Triglyceride, TG), HDL-콜레스테롤(high density lipoprotein), LDL-콜레스테롤(low density lipoprotein)을 분석하였다.

**심혈관계지표 산출**

임상진단에서 순환계와 관련한 진단지수인 동맥경화지수(atherogenic index, AI), 심장위험지수(cardiac risk factor, CRF), HTR (high density lipoprotein cholesterol and total cholesterol ratio), LHR(low density lipoprotein cholesterol ratio)는 아래의 공식에 의하여 산출하였다.

$$AI = (\text{Total cholesterol} - \text{HDL-cholesterol}) / \text{HDL-cholesterol}$$

$$CRF = \text{Total cholesterol} / \text{HDL-cholesterol}$$

$$HTR = \text{HDL-cholesterol} / \text{Total cholesterol}$$

$$LHR = \text{LDL-cholesterol} / \text{HDL-cholesterol}$$

**Table 1. Composition of experimental diets (g/kg)**

| Ingredient                       | Experiment groups <sup>1)</sup> |       |         |         |
|----------------------------------|---------------------------------|-------|---------|---------|
|                                  | ND                              | NDL   | HCD     | HCDL    |
| Casein                           | 200                             | 200   | 75      | 75      |
| Soy protein                      | -                               | -     | 130     | 130     |
| DL-Methionine                    | 3                               | 3     | 2       | 2       |
| Corn starch                      | 150                             | 150   | 275     | 275     |
| Maltodextrin 10                  | -                               | -     | 150     | 150     |
| Sucrose                          | 500                             | 500   | 30      | 30      |
| Cellulose                        | 50                              | 50    | 90      | 90      |
| Soy bean oil                     | -                               | -     | 50      | 50      |
| Corn oil                         | 50                              | 50    | -       | -       |
| Cocoa buffer                     | -                               | -     | 75      | 75      |
| Coconut oil                      | -                               | -     | 35      | 35      |
| Mineral mix S10001 <sup>2)</sup> | 35                              | 35    | 35      | 35      |
| Calcium carbonate                | -                               | -     | 5.5     | 5.5     |
| Sodium chloride                  | -                               | -     | 8       | 8       |
| Potassium citrate                | -                               | -     | 10      | 10      |
| Vitamin mix V10001 <sup>3)</sup> | 10                              | 10    | 10      | 10      |
| Choline bitartrate               | 2                               | 2     | 2       | 2       |
| Cholesterol                      | -                               | -     | 12.5    | 12.5    |
| Sodium cholic acid               | -                               | -     | 5       | 5       |
| FD&C red dye #40                 | -                               | -     | 0.1     | 0.1     |
| Total                            | 1,000                           | 1,000 | 1,000.1 | 1,000.1 |

<sup>1)</sup>ND: normal diets, NDL: ND+CIB 001 (5.0×10<sup>9</sup>-1.0×10<sup>10</sup> CFU/day), HCD: hypercholesterolemic diet, HCDL: HCD+CIB 001 (5.0×10<sup>9</sup>-1.0×10<sup>10</sup> CFU/day).

<sup>2)</sup>AIN-76A Mineral mix (g/kg): Calcium phosphate dibasic 500 g, Magnesium oxide 24 g, Potassium citrate 1 H<sub>2</sub>O 220 g, Potassium sulfate 52 g, Sodium chloride 74 g, Chromium potassium sulfate 12 H<sub>2</sub>O 0.55 g, Cupric carbonate 0.3 g, Potassium iodate 0.01 g, Ferric citrate 6 g, Manganous carbonate 3.5 g, Sodium selenite 0.01 g, Zinc carbonate 1.6 g, Sucrose 118.03 g.

<sup>3)</sup>AIN-76A Vitamin mix (g/kg): Vitamin A palmitate 0.8 g, Vitamin D3 1 g, Vitamin E acetate 10 g, Menadione sodium bisulfite 0.08 g, 1.0% Biotin 2 g, 0.1% Cyanocobalamin 1 g, Folic acid 0.2 g, Nicotinic acid 3 g, Calcium pantothenate 1.6 g, Pyridoxine-HCl 0.7 g, Riboflavin 0.6 g, Thiamin HCl 0.6 g, Sucrose 978.42 g.

**간조직의 지질침착도 및 침착양상 관찰**

혈액을 채취한 직후 복부를 개복하여 간 조직을 적출한 후 0.9% 생리식염수로 3-4회 세척하여 남아 있는 혈액 및 부착물질을 제거하고 여지로 수분을 제거한 후 중량을 측정하였다. 간조직 및 지방조직 세포의 형태학적 관찰을 위해 간 조직의 일부를 적출하여 10% 중성 완충 포르말린 용액에서 24시간 이상 고정하였다. 고정시킨 후 각 조직들을 흐르는 물로 충분히 수세하고 70, 80, 90 및 100% 에틸알코올로 단계적으로 탈수 후 paraffin 투과과정을 거쳐 포매하였다. 박절편기(RM2045, Leica, Wetzlar, Germany)로 약 4 µm 두께로 박절하여 hematoxylin-eosin(HE)으로

염색하고, xylene으로 투명화시켜 봉입한 다음 광학현미경(TS100, Nikon, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

**통계처리**

모든 실험의 결과는 평균과 표준편차(standard deviation, SD)를 계산하였다. 그룹간의 유의성은 GraphPad Prism package 4.0 (GraphPad Software, SanDiego, CA, USA)을 이용하여 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 실시하였고  $p < 0.05$  수준에서 Tukey's test로 사후검증을 수행하였다.

**결과 및 고찰**

**체중증가량 및 식이섭취량**

실험식이와 유산균을 6주 동안 급여한 흰쥐의 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율 측정결과는 Table 2와 같다. 유산균식이 전고콜레스테롤 식이(HCD, HCDL)를 급여한 4주 동안의 체중변화량은 정상식이군(ND, NDL)과 비교하여 체중증가량의 변화가 거의 없었다. 그러나 정상식이군에 비해 고콜레스테롤 식이군에서 식이섭취량이 낮았는데, 이는 실험동물이 일반사료에 비하여 고콜레스테롤 사료에 낮은 섭취기호도를 나타내기 때문으로 생각되며, Mitchell 등(21)의 단백질의 성질에 의한 동물의 섭취기호 영향에 미친다는 보고와 일치하였다. 본 실험에서 식이섭취량이 고콜레스테롤군이 낮았음에도 불구하고 실험기간동안 체중증가량이 정상식이군과 차이를 보이지 않았으며, 식이효율이 증가하

는 경향을 보여 실험식이에 함유된 단백질 이용효율이 일반사료의 casein에 비해 높아진 것으로 생각되며, 이는 Yang 등(22)의 실험 식이에서 나타난 casein과 soy protein의 차이와 유사한 경향으로 관찰되었다.

4주간 고콜레스테롤을 유발한 후 각각의 식이로 6주간 사육한 결과, 정상식이군에서 ND보다 NDL의 체중증가량이 감소하였고 고콜레스테롤 식이군에서도 HCD보다 HCDL에서 체중증가량이 감소하였으며 유산균식이 식이효율을 감소시키는 경향을 보였으나 유의적인 차이를 나타내지는 않았다. Kwon 등(9)은 김치유산균 추출물의 첨가농도가 높아짐에 따라 체중감소효과가 유의적으로 증가되는 것을 관찰하였고, 복부지방 축적을 억제하는 효과가 첨가농도 의존적으로 관찰된다고 보고하였다. 유산균에 의한 이러한 효과는 유산균세포벽 성분이 지방을 흡수하여 배설되기 때문으로 사료되며(23), 김치유산균인 *L. plantarum* CIB 001의 식이 시에도 농도에 의존적인 체중저하 효과가 있을 것으로 사료됨으로 향후 연구를 통해 이를 증명하고자 한다.

**혈청 지질 성상 변화**

CIB 001을 6주간 투여한 흰쥐의 혈장 내 총 콜레스테롤을 2주 간격으로 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 정상식이군의 ND와 NDL의 혈중 콜레스테롤 함량은 4주에서 유의적으로 줄어드는 결과를 보였으나 2주와 6주에서는 유의적 차이를 보이지 않았다. 유산균의 콜레스테롤 저하 기작은 담즙산 탈포합 활성으로 담즙산이 유실되어 간에서 담즙산이 합성될 때 전구물질로 콜레스테롤

**Table 2. Changes in body weight gain, food intake and food efficiency ratio**

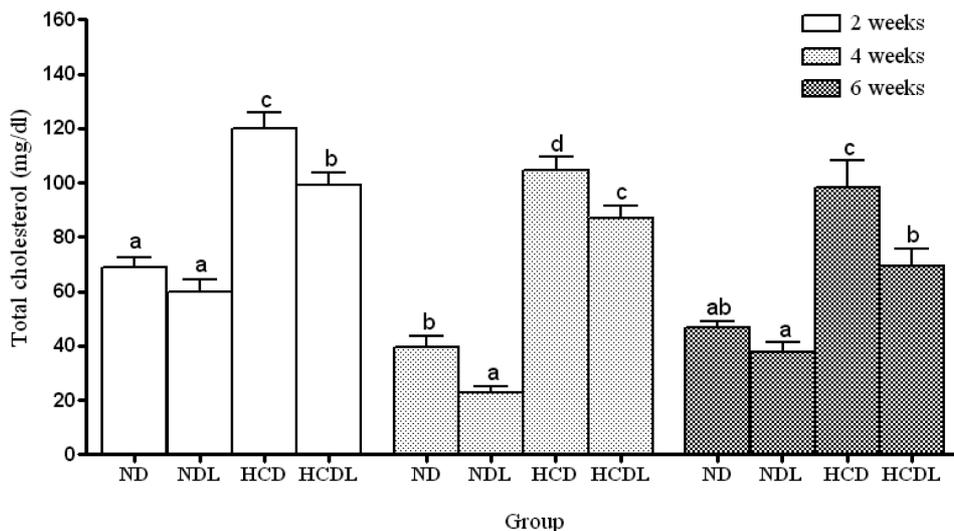
| Groups <sup>1)</sup>    | 4 weeks                 |                         |                         |                         | 6 weeks                 |                         |                         |                         |
|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                         | ND                      | NDL                     | HCD                     | HCDL                    | ND                      | NDL                     | HCD                     | HCDL                    |
| Weight gain (g/rat/day) | 60.40±14.94             | 57.85±8.83              | 61.85±10.74             | 62.20±11.00             | 23.05±19.58             | 19.00±15.39             | 25.80±19.08             | 19.66±18.30             |
| Food intake (g/rat/day) | 22.57±1.32 <sup>b</sup> | 21.47±0.35 <sup>b</sup> | 18.40±0.83 <sup>a</sup> | 19.30±0.66 <sup>a</sup> | 21.55±2.27 <sup>b</sup> | 21.66±1.22 <sup>b</sup> | 18.70±1.31 <sup>a</sup> | 18.88±0.58 <sup>a</sup> |
| FER <sup>2)</sup>       | 2.67±0.63               | 2.69±0.45               | 3.36±0.59               | 3.22±0.57               | 1.03±0.87               | 0.85±0.68               | 1.40±1.04               | 1.04±0.96               |

<sup>1)</sup>ND: normal diets, NDL: ND+CIB 001, HCD: hypercholesterolemic diet, HCDL: HCD+CIB 001.

<sup>2)</sup>Food efficiency ratio: weight gain (g)/food intake (g)

All values are mean±SD (n=2)

<sup>a-c</sup>Data are significantly different by one-way ANOVA followed Tukey's multiple comparison test ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 1. Effects of CIB 001 on total cholesterol in rats serum at high fat diets.** ND, normal diets; NDL, ND+CIB 001; HCD, hypercholesterolemic diet; HCDL, HCD+CIB 001. All values are mean±SD (n=5). <sup>a-c</sup>Data are significantly different by one-way ANOVA followed Tukey's multiple comparison test ( $p < 0.05$ ).

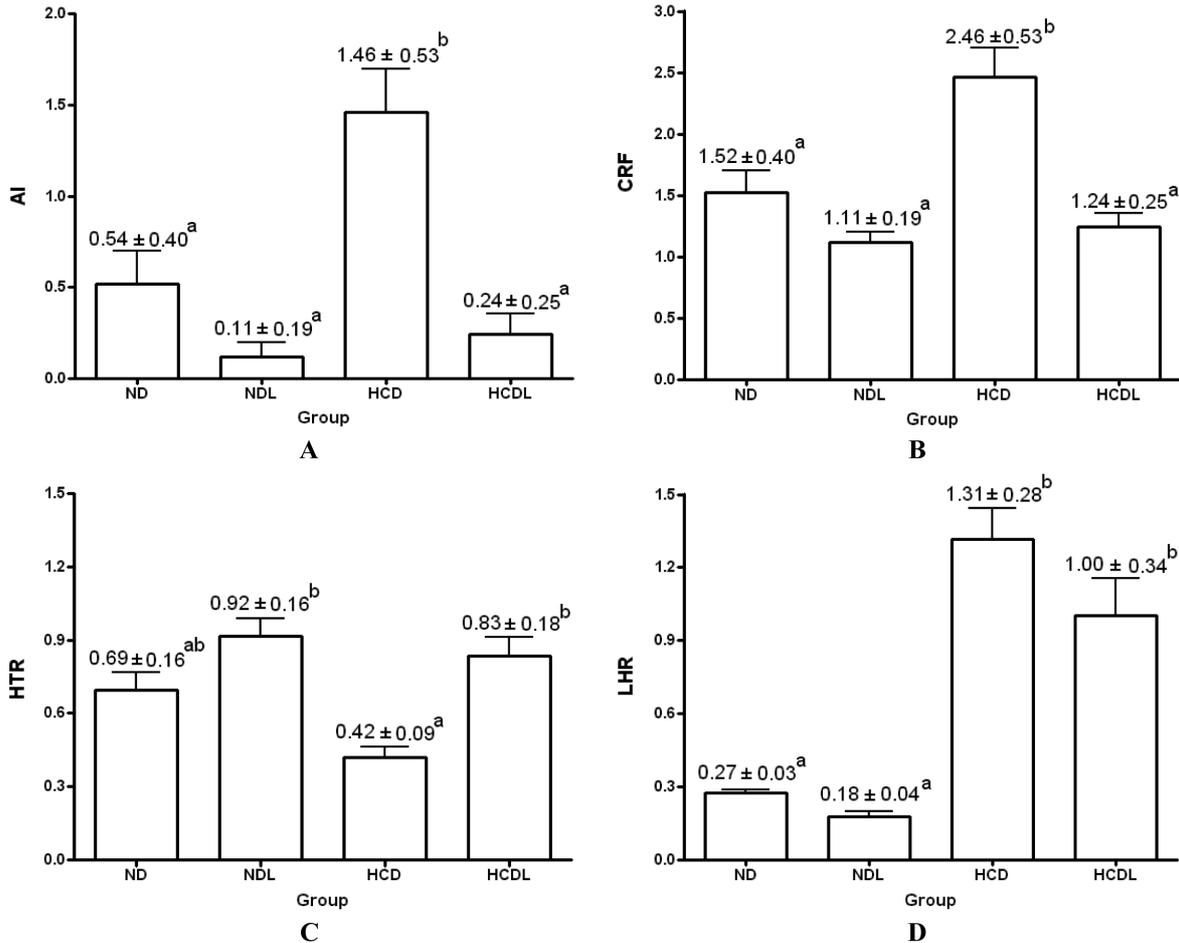
**Table 3. Contents of total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol and triglyceride in serum of rats fed experimental diets (mg/dL)**

| Groups <sup>1)</sup> | Total cholesterol        | HDL cholesterol          | LDL cholesterol           | Triglyceride             |
|----------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| ND                   | 46.78±4.60 <sup>ab</sup> | 31.90±5.04 <sup>a</sup>  | 7.60±1.81 <sup>a</sup>    | 25.80±7.12 <sup>ab</sup> |
| NDL                  | 37.89±7.21 <sup>a</sup>  | 34.00±3.62 <sup>ab</sup> | 8.00±2.54 <sup>a</sup>    | 24.00±5.33 <sup>a</sup>  |
| HCD                  | 98.42±21.50 <sup>c</sup> | 40.00±2.94 <sup>b</sup>  | 44.00±25.90 <sup>b</sup>  | 67.40±20.01 <sup>c</sup> |
| HCDL                 | 69.34±13.71 <sup>b</sup> | 56.06±3.42 <sup>c</sup>  | 38.20±22.73 <sup>ab</sup> | 45.60±8.08 <sup>b</sup>  |

<sup>1)</sup>ND: normal diets, NDL: ND+CIB 001, HCD: hypercholesterolemic diet, HCDL: HCD+CIB 001.

All values are mean±SD (n=5)

<sup>a-c</sup>Data are significantly different by one-way ANOVA followed Tukey's multiple comparison test ( $p < 0.05$ ).



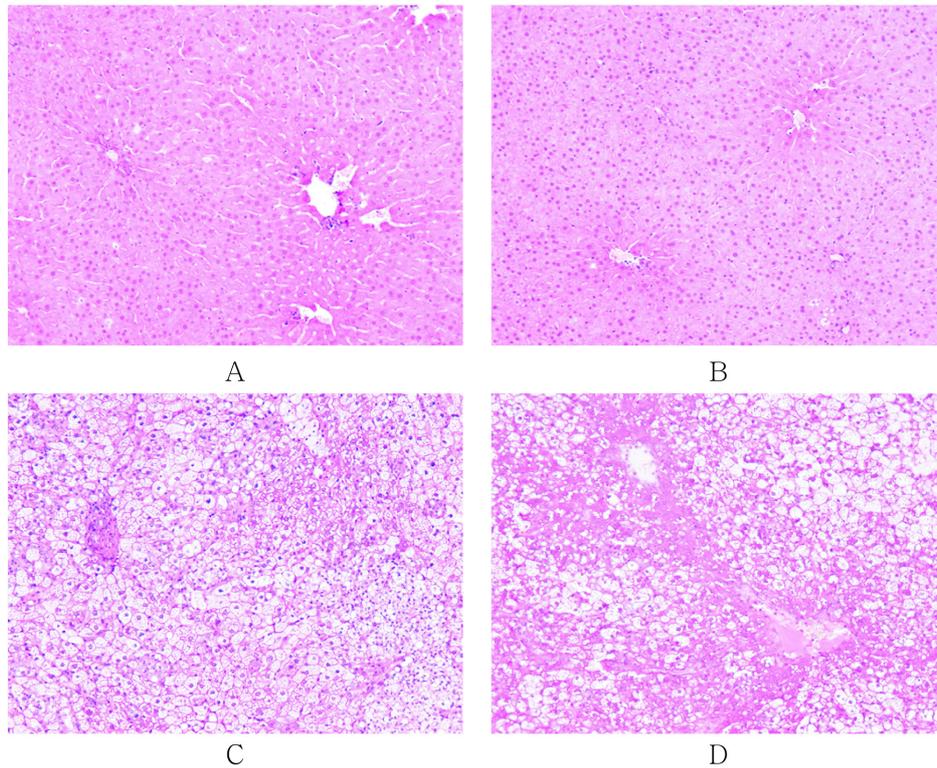
**Fig. 2. Changes of serum lipid parameter of the subjects.** ND, normal diets; NDL, ND+CIB 001; HCD, hypercholesterolemic diet; HCDL, HCD+CIB 001. All values are mean±SD (n=5). <sup>a-c</sup>Data are significantly different by one-way ANOVA followed Tukey's multiple comparison test ( $p < 0.05$ ). AI: atherogenic index=(Total cholesterol-(HDL-cholesterol))/HDL-cholesterol, CRF: cardiac risk factor=(Total cholesterol/HDL-cholesterol), HTR: high density lipoprotein cholesterol and total cholesterol ratio=HDL-cholesterol/total cholesterol, LHR: low density lipoprotein cholesterol ratio= LDL-cholesterol/HDL-cholesterol.

이 이용됨으로 인한 혈중 콜레스테롤 저하 기작과(24-26) 유산균에 의한 장내 균총의 변화로 콜레스테롤을 coprostanol로 전환시킴으로서 흡수를 저해시키는 것으로 알려져 있다(27-29). CIB 001 유산균은 *in vitro* 실험에서 담즙산 탈포합 활성이 관찰되었는데 (21) 본 실험에서 흰 쥐에 급여한 결과, 고콜레스테롤 식이군에서도 HCD군보다 CIB 001을 식이한 HCDL군이 콜레스테롤을 유의하게 감소시켰고 유산균 활성에 의해 정상식이군 수준으로 유의하게 감소하는 것을 확인하였다. 이는 Kumar 등(30)이 *in vitro* 실험에서 담즙산 탈포합 활성을 확인한 *L. plantarum* Lp21과 *L. plantarum* Lp91을 흰쥐에게 고콜레스테롤 식이와 함께 3주 동안

급여하여 콜레스테롤을 유의하게 감소시켰다는 결과와 일치하였다.

6주 동안의 실험식이 후 중성지방과 HDL-, LDL- 및 총 콜레스테롤 함량을 조사한 결과(Table 3), 중성지방의 양은 정상식이군(ND, NDL)에 비해 고콜레스테롤 식이군(HCD, HCDL)에서 유의적으로 증가하였고 HCDL군은 HCD군에 비해 약 32% 정도 유의적으로 감소하였다. 이는 유산균의 지질저하 효과(16,28,31-34)와 김치유산균 추출물(9)의 지질 저하 효과와 일치하는 결과를 나타내었다.

HDL-콜레스테롤은 lecithin cholesterol acetyl transferase(LCAT)의 활성화에 관여하여 cholesterol의 세포내 유입을 억제하여 항



**Fig. 3. The histopathological change of liver tissues in each groups (H & E stain,  $\times 400$ ).** A: ND (normal diets), B: NDL (ND+CIB 001), C: HCD (hypercholesterolemic diet), D: HCDL (HCD+CIB 001). Abbreviations were same as Table 1.

동맥경화성 작용을 나타내고(35) 혈관장에 개선에 대한 효과(36)와 과잉의 콜레스테롤을 간으로 이동시켜 동맥경화의 진행과정을 늦추는 역할을 하며(37), LDL-콜레스테롤은 혈관 내에 콜레스테롤을 축적하므로 동맥경화 등의 질환에 연관되어 있는 것으로 알려져 있다(24). 본 연구에서 LDL-콜레스테롤의 농도는 정상식이군(ND)에 비해 고콜레스테롤 식이군(HCD)이 유의적으로 높았고 고콜레스테롤 식이 중 유산균이 급여된 HCDL군에서 유의성은 없으나 감소하는 경향을 보였다. 또한, HDL-콜레스테롤 함량도 정상식이군(ND)에 비해 고콜레스테롤 식이군(HCD)에서 약 25% 증가하였으며, HCD군에 비해 유산균을 식이한 HCDL군에서 약 40% 정도 유의적으로 증가하였다. 하지만 HDL-콜레스테롤이 정상식이군(ND)에 비해 고콜레스테롤군(HCD)에서 증가하는 경향을 나타내는데 이는 고지방 식이로 인한 혈청 중 총 콜레스테롤 함량 증가에 기인한 것으로 사료되며 총 콜레스테롤 함량에 대한 HDL-콜레스테롤의 함량비(Fig. 3C)를 산출하였을 때 ND군이 약  $0.69 \pm 0.16$ 이고 HCD군은 약  $0.42 \pm 0.09$ 로 산출되었는데, 이는 Cho 등(6)과 Moon 등(10)의 고지방식이 실험에서도 유사한 경향을 나타내었다.

동맥경화지수(AI)와 심혈관계인자 지표인 CRF, LHR, HTR에 대한 결과는 Fig. 2와 같다. AI는 정상식이군(ND) 대비 고콜레스테롤 식이군(HCD)에서 약 2.8배 정도 유의적으로 증가하였고 고콜레스테롤 식이 중 CIB 001을 급여한 HCDL군에서 약 6배 정도 유의하게 감소시켰으며(Fig. 2A), CRF도 HCD군에 대비하여 HCDL군에서 약 1.9배 정도 유의적으로 낮아졌다(Fig. 2B). 총 콜레스테롤 중 HDL-콜레스테롤 비율(HTR)과 LDL-콜레스테롤 비율(LHR)을 살펴보면, HTR은 CIB 001의 식이가 정상식이군과 고콜레스테롤 식이군에서 유의적으로 증가시켜 Jeun 등(38)의 마우스 실험에서 HDL-콜레스테롤이 증가된 결과와 유사하였다. LHR

에서는 정상식이군(ND) 대비 고콜레스테롤 식이군(HCD)이 약 4.8배 정도 증가하였고 HCDL군에서 약 1.3배 감소하였으나 유의적이진 않았다(Fig. 2D). AI와 CRF는 심혈관계질환에 대한 위험신호로서 임상에서 주로 사용되고 있는데(12,39) CIB 001의 식이가 이러한 질환에 대한 위험도를 유의적으로 낮추는 것을 알 수 있었다. 따라서 CIB 001 유산균을 복용하는 것이 심혈관계질환 예방 및 치료에 보조적인 역할을 할 수 있을 것으로 사료된다.

### 지질 침착

지방질의 축적을 확인하기 위한 간조직의 광학현미경 관찰 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 정상식이군(ND)의 간 조직은 세포의 핵 및 세포질 등에 지방침착 등의 병리학적 변화가 관찰되지 않았으며 정상적인 세포 배열이 관찰되었다(Fig. 3A). 정상식이 중 유산균식이군(NDL)의 간 조직은 세포의 핵과 세포질 및 세포의 배열이 정상적이었고 ND군과 비교하여 대체적으로 유사한 양상을 보이고 있었다(Fig. 3B).

고콜레스테롤 식이군(HCD)은 거의 모든 간세포와 간 동모양혈관(Sinusoid) 내피세포에서 부종 및 수종성 변성과 공포변성이 관찰되고 간세포의 세포질 내에 미만성의 지방변성이 관찰된다. 또한 간세포의 핵은 작고 농축되어 있고 문맥 내 염증세포의 침윤이 일부 관찰되었으며 간세포의 배열이 무질서하게 보였다(Fig. 3C). 고콜레스테롤 식이 중 CIB 001을 급여한 HCDL의 경우, 미만성으로 간세포와 간 동모양혈관 내피세포에서 부종 및 수종성 변성이 관찰되었으나 HCD군에 비해 중심정맥을 중심으로 정상모양의 간세포 재생이 관찰되었으며 지방 변성이 현저히 감소되었다. 또한 간세포의 배열이 정상에 비해서는 여전히 무질서하나 재생된 간세포를 중심으로 배열의 회복과 염증세포 침윤의 감소를 보이는 것으로 관찰되었다(Fig. 3D). 따라서 CIB 001 유산균

의 급여는 고콜레스테롤 식이로 유도되는 간조직의 지방 축적을 억제하고 간 손상을 완화하는데 도움이 될 것으로 생각되었다.

## 요 약

김치유산균인 *L. plantarum* CIB 001(KCTC 11717 bp)을 고콜레스테롤을 식이를 섭취시킨 흰쥐에게 급여하여 혈청 지질 정상 및 간 조직의 변화를 살펴보았다. 4주간의 실험식으로 고콜레스테롤 유도한 후, 6주간 고콜레스테롤 식이와 함께 CIB 001 유산균을  $5.0-7.5 \times 10^9$  CFU/day 수준으로 급여한 결과 총 콜레스테롤을 HCD군에 비해 약 30% 정도 유의하게 감소시켰고 중성지방을 약 32% 정도 유의하게 감소시켰다. HDL-콜레스테롤에 있어서는 HCD군에 비해 CIB 001를 급여한 군(HCDL)이 약 40% 유의적으로 증가하였고, LDL-콜레스테롤은 감소하는 경향을 보였으나 표준편차가 커서 유의성이 없었다. 동맥경화지수(AI)와 심장위험인자(CRF)를 비교하였을 때, HCD군에 비하여 HCDL군에서 AI가 약 6배 유의하게 낮아졌고 CRF도 약 1.9배 유의적으로 낮아졌다. 또한, 간 조직을 관찰한 결과, 고콜레스테롤 식이에 의해 유발된 지방 변성과 손상의 경우 HCDL군에서 중심정맥을 중심으로 정상 모양의 재생과 지방 변성을 감소시키는 것이 관찰되었다. 따라서 CIB 001의 투여가 콜레스테롤 과잉혈증 상태에서 높아진 혈장 지질을 저하시키고 간 기능을 개선시켰으며 동맥경화와 심장질환의 가능성을 감소시키는 것으로 나타났다.

## 문 헌

1. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, McQueen M, Budaj A, Pais P, Varigo J, Lisheng A. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (The INTERHEART Study): Case-control study. *Lancet* 364: 937-952 (2004)
2. WHO. Diet, nutritional, and prevention of chronic diseases: Report of a joint WHO/FAO expert consultation. World Health Organization, Geneva, Switzerland (2003)
3. Anderson JW, Jones AE, Riddell-Mason S. Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. *J. Nutr.* 124: 78-83 (1994)
4. Tinker LF, Davis PA, Schneeman BO. Prune fiber or pectin compared with cellulose lowers plasma and liver lipids in rats with diet-induced hyperlipidemia. *J. Nutr.* 124: 31-40 (1994)
5. Tsai AC, Elias J, Kelly JJ, Lin RSC, Robson JRK. Influence of certain dietary fibers on serum and tissue cholesterol levels in rats. *J. Nutr.* 106: 118-123 (1976)
6. Cho YS, Shon MY, Lee MK. Lipid lowering action of powder and water extract of mulberry leaves in C57BL/6 mice fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36: 406-410 (2007)
7. Jung YH, Han SH, Shin MK. Effects of green and black Korean teas on lipid metabolism in diet-induced hyperlipidemic rats. *J. East Asian Soc. Dietary Life* 16: 550-558 (2006)
8. Kim DW, Yang DH, Kim SY, Kim KS, Chung MG, Kang SM. Hypocholesterolemic effect of lyophilized, heat-killed *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus plantarum*. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 37: 69-74 (2009)
9. Kwon JY, Cheigh HS, Song YO. Weight reduction and lipid lowering effects of kimchi lactic acid powder in rats fed high fat diets. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 1014-1019 (2004)
10. Moon JH, Sung JH, Choi IW, Kim YS. Anti-obesity and hypolipidemic activity of taro powder in mice fed with high fat and cholesterol diets. *Korean J. Food Sci. Technol.* 42: 620-626 (2010)
11. Park JE, Kee HJ, Cha YS. Effect of Stevia rebaudiana bertonii leaf extract on antiobesity in C57BL/6J mice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 42: 586-592 (2010)
12. Yun YP, Kang WS, Lee MY. The antithrombotic effects of green tea catechine. *J. Food Hyg. Safety* 11: 77-82 (1996)
13. Muller U, Steinhoff U, Reis LF, Hemmi S, Pavlovic J, Zinkernagel RM, Aguet M. Functional role of type I and type II interferons in antiviral defense. *Science* 264: 1918-1921 (1994)
14. Kwon HK, Lee CG, So JS, Chae CS, Hwang JS, Sahoo A, Nam JH, Rhee JH, Hwang KC, Im SY. Generation of regulatory dendritic cells and CD4+Foxp3+ T cells by probiotics administration suppresses immune disorders. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 107: 2159-2164 (2010)
15. Fukushima M, Nakano M. Effects of a mixture of organisms, *Lactobacillus acidophilus* or *Streptococcus faecalis* on cholesterol metabolism in rats fed on a fat- and cholesterol-enriched diet. *Brit. J. Nutr.* 76: 857-867 (1996)
16. Gilliland SE, Nelson CR, Maxwell C. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microb.* 49: 377-381 (1985)
17. Christiaens HR, Leer J, Pouwels PH, Verstraete W. Cloning and expression of a conjugated bile acid hydrolase gene from *Lactobacillus plantarum* by using a direct plate assay. *Appl. Environ. Microb.* 58: 3792-3798 (1992)
18. Dashkevich MP, Feighner SD. Development of a differential medium for bile salt hydrolase-active *Lactobacillus* spp. *Appl. Environ. Microb.* 55: 11-16 (1989)
19. Lin MY, Chen TW. Reduction of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus* in culture broth. *J. Food Drug Anal.* 8: 113-118 (2000)
20. Cha SD, Kim TW, Lee DH. Isolation and identification of *Lactobacillus plantarum* CIB 001 with bile salt aconjugation activity from kimchi. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* 38: 222-226 (2010)
21. Mitchell GV, Jenkins MY, Grundel E. Protein efficiency ratios and net protein ratios of selected protein foods. *Plant Foods Hum. Nutr.* 39: 53-58 (1989)
22. Yang JL, Lee SH, Song YS. Improving effect of powders of cooked soybean and *cheonggukjang* on blood pressure and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 899-905 (2003)
23. Jung HK, Kim ER, Yae HS, Choi SJ, Jung JY, Juhn SL. Cholesterol-lowering effect of lactic acid bacteria and fermented milks as probiotics functional foods. *Food Ind. Nutr.* 5: 29-35 (2000)
24. Jones BV, Begley M, Hill C, Gahan CGM, Marchesi JR. Functional and comparative metagenomic analysis of bile salt hydrolase activity in the human gut microbiome. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 13580-13585 (2008)
25. Ramasamy K, Abdullah N, Wong M, Karuthand C, Ho YW. Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by *Lactobacillus* strains used as probiotics in chickens. *J. Sci. Food Agr.* 90: 65-69 (2010)
26. Tanaka H, Doesburg K, Iwasaki T, Mierau I. Screening of lactic acid bacteria for bile salt hydrolase activity. *J. Dairy Sci.* 82: 2530 - 2535 (1999)
27. Klaver FAM, van der Meer R. The assumed assimilation of cholesterol by *Lactobacilli* and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt-deconjugating activity. *Appl. Environ. Microb.* 59: 1120-1124 (1993)
28. Sadzikowski MR, Sperry JF, Silkins TD. Cholesterol-reducing bacterium from human feces. *Appl. Environ. Microb.* 34: 355-362 (1977)
29. Harrison VC, Peat G. Serum cholesterol and bowel flora in the newborn. *Am. J. Clin. Nutr.* 28: 1351-1355 (1975)
30. Kumar R, Grover S, Batish VK. Hypocholesterolaemic effect of dietary inclusion of two putative probiotic bile salt hydrolase-producing *Lactobacillus plantarum* strains in Sprague-Dawley rats. *Brit. J. Nutr.* 105: 561-573 (2011)
31. Karlsson CLJ, Molin G, Fak G, Hagsalatt MLJ, Jakešević M, Hakansson A, Jeppsson B, Westrom B, Ahme S. Effects on weight gain and gut microbiota in rats given bacterial supplements and a high-energy-dence diet from fetal life through to 6 months of age. *Brit. J. Nutr.* 106: 887-895 (2011)
32. Rasic JL, Vujicic IF, Skrinjar M, Vulic M. Assimilation of cholesterol by some cultures of lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Biotechnol. Lett.* 14: 39-44 (1992)

33. Tahri K, Crociani J, Ballongue J, Schneider F. Effects of three strains of bifidobacteria on cholesterol. *Lett. Appl. Microbiol.* 21: 149-151 (1995)
34. Tahri K, Grill JP, Schneider F. Bifidobacteria strain behavior toward cholesterol: Coprecipitation with bile salts and assimilation. *Curr. Microbiol.* 33: 187-193 (1996)
35. Venter CS, Vorster HH, Vander Nest DG. Comparison between physiological effect of konjac-glucomannan and propionate in baboons fed "western" diet. *J. Nutr.* 120: 1046-1050 (1990)
36. Rose R. The pathogenesis of atherosclerosis an update. *New Engl. J. Med.* 314: 488-494 (1983)
37. Tall AR. Plasma high density lipoproteins metabolism and relationship to atherogenesis. *J. Clin. Invest.* 86: 379-384 (1990)
38. Jeun J, Kim SY, Cho SY, Jun HJ, Park HJ, Seo JG, Chung MJ, Lee SJ. Hypocholesterolemic effects of *Lactobacillus plantarum* KCTC3928 by increased bile acid excretion in C57BL/6 mice. *Nutrition* 26: 321-330 (2010)
39. Rosenfeld L. Lipoprotein analysis: Early methods in the diagnosis of atherosclerosis. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 113: 1101-1110 (1989)