

보 문

## 한국인 모유영양아의 분변에서 분리한 *Lactobacillus rhamnosus* IDCC 3201의 항알레르기 효과

이승훈<sup>1,2</sup> · 강재훈<sup>1</sup> · 강대중<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>일동제약(주) 중앙연구소, <sup>2</sup>건국대학교 생물공학과

### Anti-allergic effect of *Lactobacillus rhamnosus* IDCC 3201 isolated from breast milk-fed Korean infant

Seung-Hun Lee<sup>1,2</sup>, Jae-Hoon Kang<sup>1</sup>, and Dae-Jung Kang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>*Bioprocess Engineering Team, Research Laboratories, ILDONG Pharmaceutical Co., Ltd., Hwaseong 18449, Republic of Korea*

<sup>2</sup>*Department of Biotechnology and Bioengineering, Konkuk University, Seoul 05029, Republic of Korea*

(Received March 3, 2016; Revised March 16, 2016; Accepted March 16, 2016)

**ABSTRACT:** We investigated 23 lactic acid bacteria isolated from Korean breast milk-fed infant in order to select strains which show superior anti-allergic effect. The candidates were cultivated and then we obtained dried powders of tyndallized cells and supernatant concentrate separately. Screening was carried out with down-regulation of interleukin (IL) 4 and up-regulation of IFN- $\gamma$  in mouse splenocytes. As a result of the screening, we selected *Lactobacillus rhamnosus* IDCC 3201 (RH3201) for oral feeding to ovalbumin-sensitized BALB/c mice. Oral administration of RH3201 as dead cell bodies and supernatant concentrate suppressed hyper-production of serum immunoglobulin (Ig) E levels compared to vehicle group. Such anti-allergic effects were achieved by improvement of the balance between cytokines produced from type-1 helper T (Th1) and type-2 helper T (Th2) lymphocytes. Therefore, RH3201 has potential to improve atopic symptoms by immunomodulatory effect.

**Key words:** *Lactobacillus rhamnosus* IDCC 3201, immunomodulation, tyndallization, immunoglobulin E

인간의 장내에는 약 100조 이상의 장내세균이 서식하고 있다. 장내 세균총(intestinal microflora)에는 소위 유익균이라 하는 숙주에 이로운 역할을 하는 균이 있는 반면 각종 부작용을 일으키는 유해균도 존재하는데, 이들 균주의 균형을 유지하는 것이 건강을 유지하는데 중요하다(Gail, 2007). 최근 아토피 유발 환자의 증가로 인해 큰 사회적 손실이 발생하고 있는데, 이에 대한 원인으로서 널리 받아들여지고 있는 위생가설(hygiene hypothesis)에 따르면 비위생적 환경에 노출될수록 다양한 면역 반응을 학습할 수 있는 기회가 생겨 아토피를 예방할 수 있다(Yazdanbakhsh *et al.*, 2002). 장내 균총의 변화는 수지상 세포나 장 상피 세포에 존재하는 toll-like receptor

등에 의해 인지되고 면역 반응을 일으키게 되므로, 유익균의 섭취를 통한 장내 균총의 변화는 아토피에서 나타나는 면역 반응 조절자로서의 역할을 할 수 있다(Kelly *et al.*, 2005).

유익균으로 널리 알려진 유산균(Lactic acid bacteria)은 유해균의 생육 저해 및 부착 억제능으로 장내 세균총을 조절하여 정상작용을 하는 것으로 알려져 있다(Chauviere *et al.*, 1992; Styriak *et al.*, 2003). 위장관의 미생물 균총은 점막 면역에 영향을 미쳐, 장내 균총이 존재하지 않는 무균실험동물에서는 Peyer's patches와 상피세포층의 림프구 그리고 immunoglobulin (Ig) A가 감소되어 있으며 IgE 생성을 제어할 수 있는 면역조절 능력도 감소되어 있다는 내용이 보고된 바 있다(Retnaningtyas *et al.*, 2008). 유산균은 세포성 면역을 활성화하거나 항체 생성을 조절하는 기능이 있고, 최근에는 과민면역반응인 알레르기를 개선할 수 있는 기능성이 제기되고 있다(Herich and Levkut,

\*For correspondence. E-mail: dj kang@ildong.com;  
Tel.: +82-31-371-2881; Fax: +82-31-371-2900

2002; Ishida *et al.*, 2005; Yu *et al.*, 2010). 그람 양성 세균인 유산균 세포벽의 muramyl dipeptide와 lipoteichoic acid (Claes *et al.*, 2012) 등이 세포 표면의 수용체와 반응하여 interleukin (IL)-12 등의 싸이토카인(cytokines) 생성을 변화시키는 것으로 보고되었다(Schwandner *et al.*, 1999).

알레르기는 체내에 침입한 항원에 대해 면역체계가 과민반응을 보이는 것으로 항원은 macrophage를 통해 T 세포에 전달되고, T 세포는 항원 종류나 반응하는 수용체에 따라 type-1 T helper (Th1) 세포 또는 type-2 T helper (Th2) 세포로 분화한다. Th2 세포의 싸이토카인인 IL-4, IL-5, IL-13은 체액성 면역인 B cell을 활성화시킴으로써 결과적으로 가려움증을 유발하는 IgE 생성량이 증가하여 알레르기가 유발되는 반면, Th1 세포인 IL-12, interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )는 세포성 면역을 활성화시키고 IgE 생성을 억제하는 작용을 한다(Kato *et al.*, 1999). 따라서 Th1과 Th2 세포의 균형이 잘 유지되도록 하면 알레르기 반응을 억제할 수 있다(Fujiwara *et al.*, 2004).

Kanamycin을 투여하여 장내 세균총을 교란시킨 마우스에서 Th2 세포의 활성화와 관련이 있는 IL-4와 IgE 등이 증가하였으며 이 마우스에 유산균을 투여하면 저해되었다는 것이 보고된 바 있다(Cross *et al.*, 2001). *Lactobacillus rhamnosus* GG의 경우 알레르기 증상이 있는 유아들에게 투여하여 장내염증과 아토피 피부염(atopic dermatitis) 증상이 완화된 바 있다(Majamaa and Isolauri, 1997). 본 연구에서는 아토피 피부염을 포함하는 알레르기 증상 예방 및 완화능을 갖는 기능성 프로바이오틱스 균주를 개발하기 위하여, 한국인의 유아 분변에서 분리된 유산균에서 *in vitro* 실험을 통해 Th1/Th2 싸이토카인의 균형을 동시에 유지시킬 수 있는 유산균을 선별하고 동물실험을 통해 그 면역 조절 기능을 확인하였다.

## 재료 및 방법

### 균주 분리 및 배양물 제조

서울·경기 소재의 산후조리원에서 사전 동의 후 신생아 분변에서 분리한 유산균을 사용하였다. 각 균주를 효모추출분말 기반 배지에 10% (v/v) 접종하고 18시간 동안 배양한 후  $8,000 \times g$ 로 10분간 원심분리하여 균체와 상등액을 각각 얻었다. 균체는 70°C에서 2시간 열처리(tyndallization) 하여 사균화하였고, 상등액은 감압 농축기(N-1100, EYELA)를 사용하여 10배 농축한 다음 각각 동결건조 하여 분쇄하였다. 균체와 상등액 시료는 멸균 증류수를 사용해 희석하여 사용하였으며, 사균체 개수는 Neubauer counting chamber (Superior)를 사용

하여 직접계수법(direct count method)을 통해 계측하였다.

### 실험동물

이 실험에서는 생후 5주령 암컷 BALB/c 마우스를 사용하였다. 실험 과정은 National Institutes of Health Animal Research and Care에 따라 진행되었고, 일동제약의 Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) 승인을 받아 진행하였다(승인번호 A1303-6, A1305-4).

### 항 알레르기 균주의 *in vitro* 선별

처리 시료는 23종의 유산균 사균체 및 상등액 농축물을 증류수에 현탁하였고, 양성대조군으로는 *L. rhamnosus* GG를 사용하였다. BALB/c 마우스에 Al(OH)<sub>3</sub> 2 mg과 ovalbumin (OVA) 1 mg을 복강주사로 부스팅 시키고 6일 경과 후 동일하게 2차 부스팅 하였다. 13일째 마우스에서 비장을 무균적으로 적출하고 10% FBS과 OVA가 1 mg/ml 함유된 DMEM 배지에  $5 \times 10^6$  cells/ml의 농도로 현탁하여 비장세포를 준비하였다. 96 well plate의 각 well에 비장세포 현탁액( $5 \times 10^6$  cells/ml) 200  $\mu$ l를 분주하고, 시료를 최종 1  $\mu$ g/ml 되도록 첨가한 후 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 7일간 배양하였다. 배양종료 후 배양액 중의 IL-4, IL-12, IFN- $\gamma$ 를 cytosep kit (Biosource International)를 이용하여 측정하였다.

### 세포 독성 측정

균주 선별 실험을 통해 선정된 *L. rhamnosus* IDCC 3201 (RH3201, GenBank AY094065)의 사균체와 상등액 농축물의 농도 별 세포 독성은 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay (Promega, USA)로 측정하였다. RAW 264.7 세포를  $2 \times 10^5$  cell/well의 농도로 96 well plate에 분주하고 2시간 동안 배양한 다음 배지를 제거하고 시료와 대조군을 농도 별로 처리하여 24시간 배양하였다. 96 well plate의 상등액을 제거한 후 0.5 mg/ml MTT 용액을 200  $\mu$ l 씩 첨가하여 1시간 동안 배양하여 formazan을 형성시켰다. 이후 상등액을 제거하고 용해액을 첨가하여 formazan을 녹인 후 ELISA 판독기 (Bio-Tek)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### RH3201의 *in vivo* 항 알레르기 효과

각 균주들의 면역조절 작용을 확인하기 위해 Xu 등(2013)의 방법을 변형하여 실험법을 확립하였다. 적응기간을 거친 실험동물을 난괴법으로 시험군 당 6마리씩 나누고 7일마다 각

각의 마우스에 OVA 100 µg과 Al(OH)<sub>3</sub> 2 mg을 복강 주사하여 부스팅하였다. 시험군은 RH3201의 사균체(10<sup>8</sup>, 10<sup>9</sup> cells) 섭취군, 상등액 농축물(10, 100 mg) 섭취군, 증류수만 섭취한 군으로 분류하였으며, 시험물질은 음용수의 형태로 마우스 당 1 mg/day 경구투여 하였다. 각 실험군 마우스의 혈중 IgE의 농도를 7일 간격으로 sandwich ELISA kit (Shibayagi)를 사용하여 측정하였다. 마지막 28일째에는 마우스의 비장을 적출하여 10% FBS과 OVA가 100 µg/ml 함유된 DMEM배지에 5 × 10<sup>6</sup> cells/ml의 농도로 현탁하여 96 well plate에 분주하였다. 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 2일간 배양한 다음 IL-4와 IL-12, IFN-γ의 생성량을 cytoset kit를 이용하여 측정하였다.

### 통계분석

결과는 평균(mean)과 표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였다. 군주 선별 실험 결과는 3회 반복 실험하여 student t-test로 분석하였고, 혈중 IgE 농도와 사이토카인 수치는 Mann-Whitney U test로 처리하였다. 모든 데이터 분석은 SPSS Statics 19.0 (SPSS Inc.)를 사용하여 수행하였다.

## 결과 및 고찰

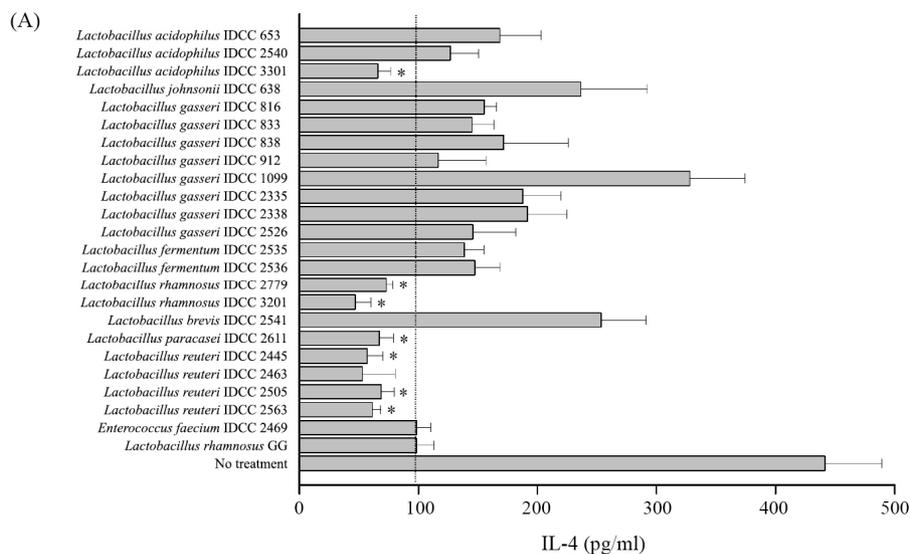
### 분리 균주의 사균체 선별

신생아 유아 분변에서 분리한 23종 유산균의 사균체에 의

한 비장세포의 *in vitro* 사이토카인 생성능을 확인하였다. Fig. 1은 유아 분변에서 분리한 23종의 유산균 사균체를 이용하여 비장세포의 사이토카인 생성능을 측정된 결과이다. Th2 사이토카인인 IL-4는 B 세포로부터 IgE의 생성을 유도하는 것으로 알려져 있다(Vercelli, 1995). 대부분의 후보 균주에서 증류수 섭취군과 비교했을 때 유의적으로 낮은 수치를 보였으며 (Fig. 1A), 반대로 Th1 사이토카인인 IL-12과 IFN-γ의 수치는 상승하였다(Fig. 1B and C). Th1/Th2 균형을 확인하기 위해 군주 별로 IFN-γ/IL-4의 수치로 나타내었다(Fig. 1D). 이 결과를 토대로 IL-4과 IFN-γ의 수치가 양성대조군인 *L. rhamnosus* GG에 비해 유의적인 차이가 있는 후보군을 선별하고, 특히 IFN-γ/IL-4의 수치가 압도적으로 높았던 RH3201을 사용하여 동물실험을 진행하였다.

### 선별 균주의 상등액에 의한 사이토카인 변화

양성대조군인 *L. rhamnosus* GG에 비해 Th1/Th2 균형이 유의성 있게 높은 군주 6개에 대한 상등액 농축물에 의한 비장세포의 사이토카인 변화를 나타내었다(Table 1). 사균체에서와 마찬가지로 RH3201의 상등액 농축물도 다른 군주의 상등액 농축물에 비해 모든 사이토카인에서 유의성 있는 차이를 보여 주었다. 따라서 RH3201의 사균체와 상등액 성분은 Th2 세포가 우세한 면역반응 상태를 Th1이 우세하게 변화시키므로 B 세포 생성을 억제하고, 그 결과로 IgE 억제능을 가질 것으로 생각된다.



**Fig. 1.** IL-4 (A), IL-12 (B), and IFN-γ (C) cytokines production by splenocyte isolated from ovalbumin (OVA)-sensitized BALB/c mice. IFN-γ/IL-4 ratios (D) were represented by relative values to vehicle group. A difference between lactobacilli groups and control group was considered statistically significant when \**P* < 0.05, \*\**P* < 0.01, and \*\*\**P* < 0.001.

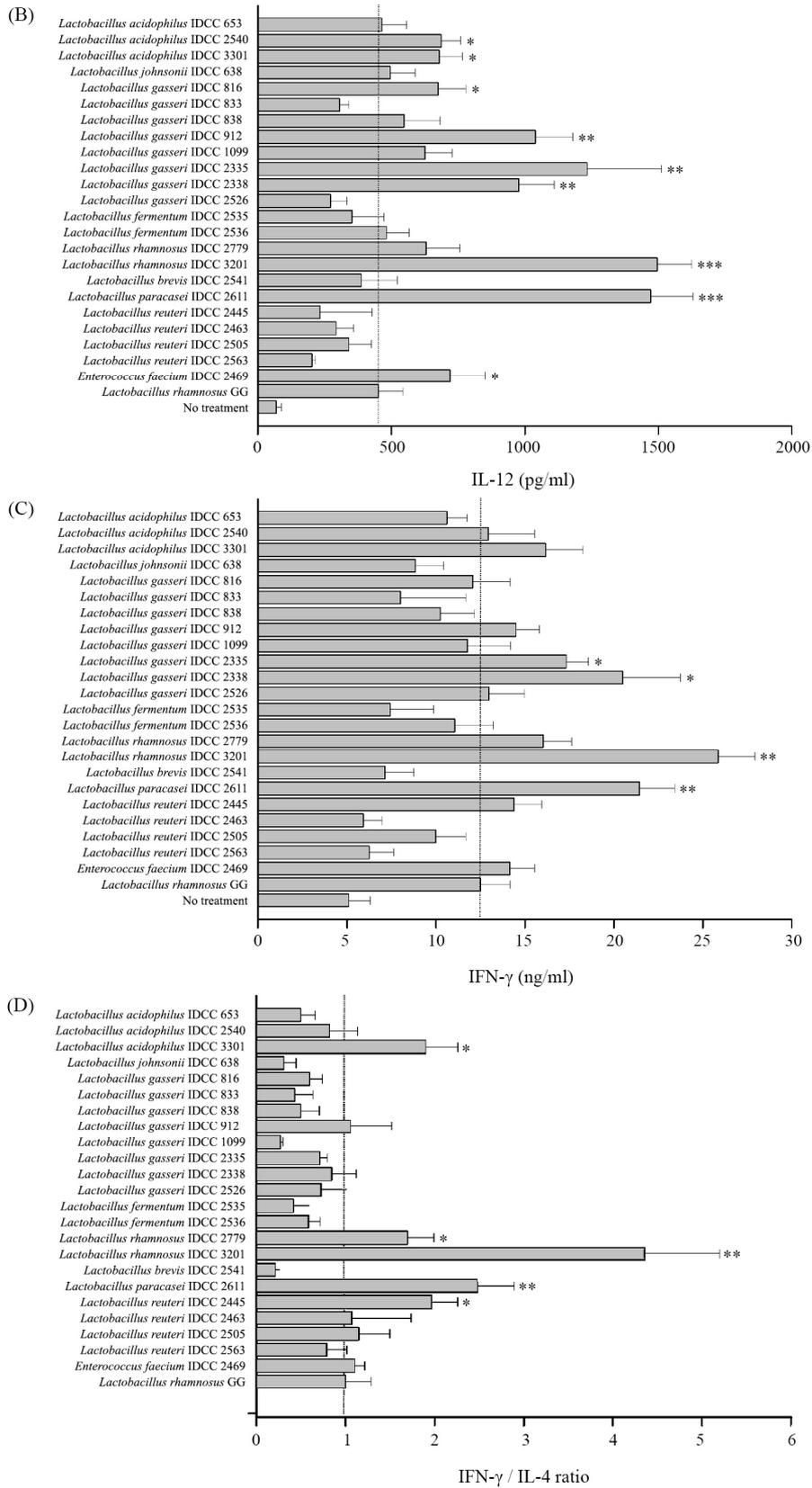
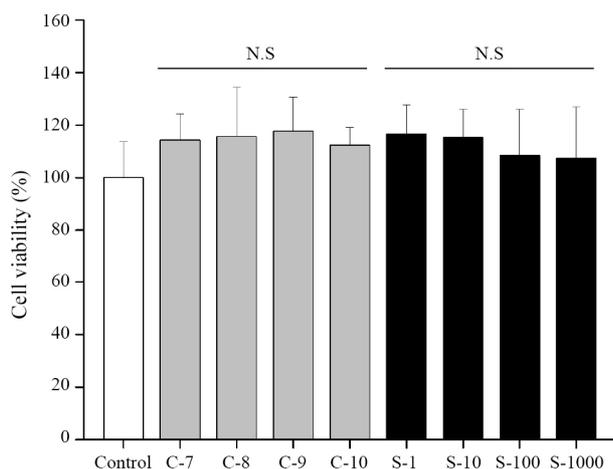


Fig. 1. Continued.

**Table 1.** Cytokines production by splenocytes from ovalbumin (OVA)-sensitized mice stimulated by OVA in the absence (control) or presence of lactobacilli supernatants. Data are shown as mean  $\pm$  SD. A difference between lactobacilli groups and control group was considered statistically significant when  $*P < 0.05$  and  $**P < 0.01$

Strains	IL-4 (pg/ml)	IL-12 (pg/ml)	IFN- $\gamma$ (ng/ml)
Control	372 $\pm$ 60	130 $\pm$ 51	5.9 $\pm$ 1.4
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	252 $\pm$ 48	238 $\pm$ 31*	10.3 $\pm$ 1.2*
<i>Lactobacillus acidophilus</i> IDCC 3301	322 $\pm$ 63	182 $\pm$ 47	7.9 $\pm$ 1.8
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> IDCC 2779	262 $\pm$ 34	241 $\pm$ 76	12.1 $\pm$ 1.6**
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> IDCC 3201	215 $\pm$ 43*	323 $\pm$ 63*	15.6 $\pm$ 2.3**
<i>Lactobacillus paracasei</i> IDCC 2611	261 $\pm$ 51	270 $\pm$ 97	9.4 $\pm$ 0.9*
<i>Lactobacillus reuteri</i> IDCC 2445	194 $\pm$ 40*	299 $\pm$ 89*	9.8 $\pm$ 2.9
<i>Lactobacillus reuteri</i> IDCC 2505	275 $\pm$ 68	210 $\pm$ 84	10.1 $\pm$ 2.2*



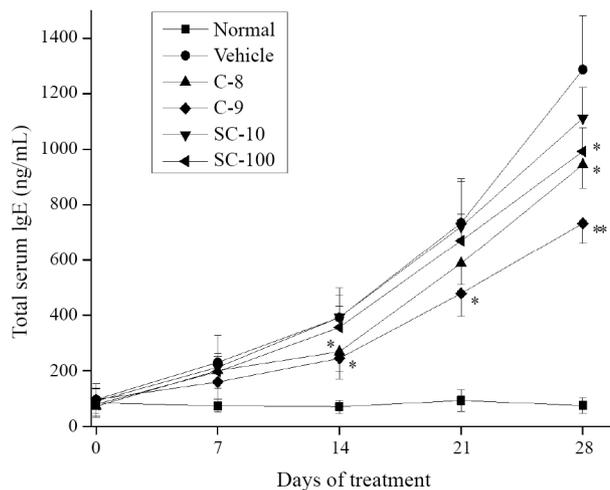
**Fig. 2.** Cell cytotoxicity of RH3201 cells and supernatant concentrate on RAW 264.7 macrophage. Data are shown as mean  $\pm$  SD of three separate experiments. N.S., not significant. Abbreviations: C-7,  $10^7$  cells; C-8,  $10^8$  cells; C-9,  $10^9$  cells; C-10,  $10^{10}$  cells; S-1, 1  $\mu$ g of supernatant concentrate; S-10, 10  $\mu$ g of supernatant concentrate; S-100, 100  $\mu$ g of supernatant concentrate; S-1000, 1000  $\mu$ g of supernatant concentrate.

### 세포 생존율 확인

RH3201가 마우스 대식세포(macrophage)에 독성을 가지는지 확인하기 위하여 사균체와 상등액 농축물을 RAW 264.7 세포에 처리한 후 세포의 생존율을 MTT assay로 측정하였다 (Fig. 2). 대식세포에 24시간 처리한 후에도 전 농도에서 컨트롤 대비 유의적인 세포사멸이 발견되지 않았다. 또한 농도 간에도 서로 유의적인 차이를 보이지 않았기 때문에 RH3201의 균체와 대식세포는 대식세포에 대한 세포독성이 없음을 확인할 수 있었다.

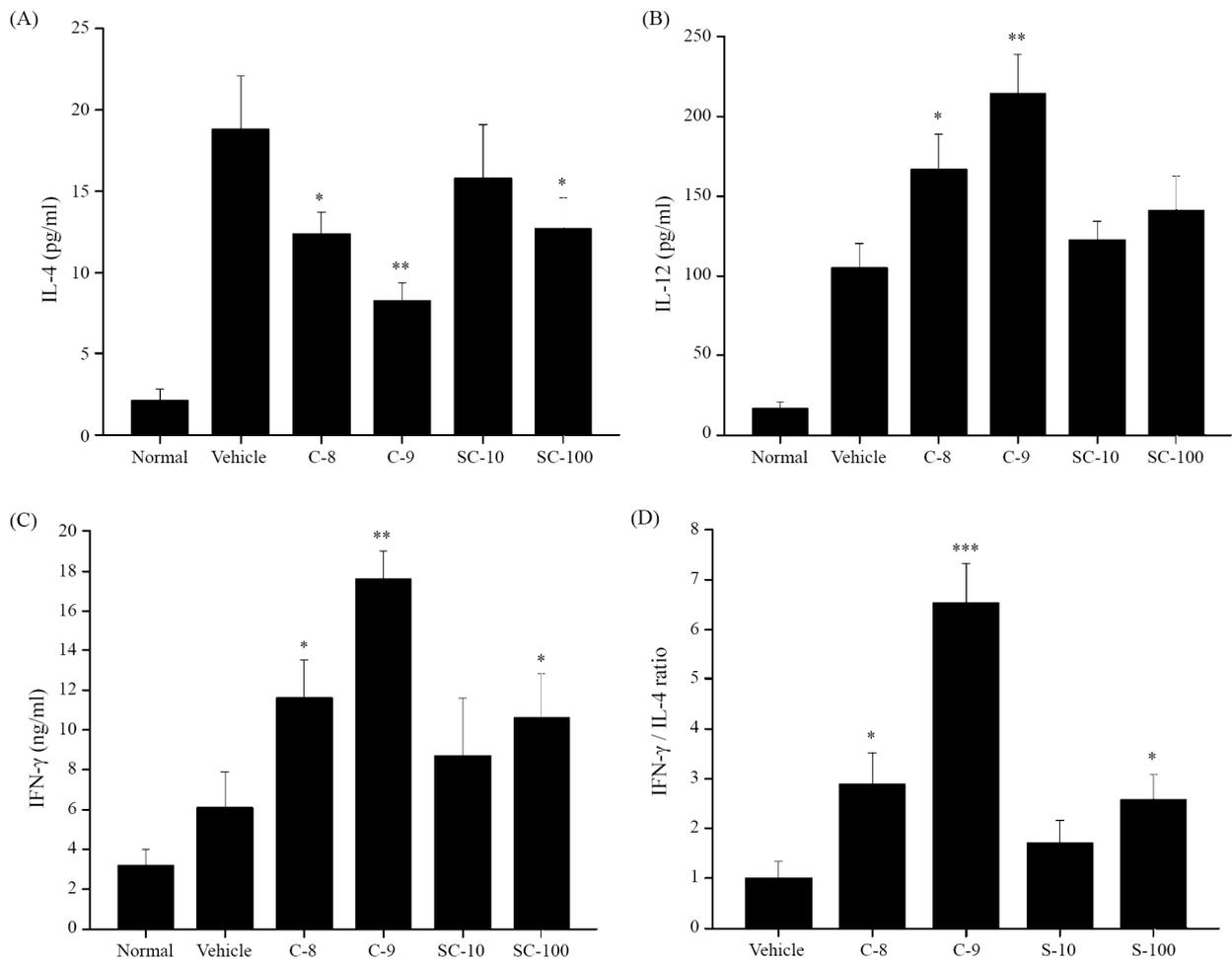
### RH3201의 IgE 저하능

RH3201의 사균체와 상등액 농축액을  $10^8$ ,  $10^9$  cells/day의



**Fig. 3.** Total serum IgE levels in OVA-sensitized BALB/c mice with oral feeding of RH3201 cells and supernatant concentrate on day 0, 7, 14, 21, and 28. A difference between samples and control group was considered statistically significant when  $*P < 0.05$  and  $**P < 0.01$ . Abbreviations: C-7,  $10^7$  cells; C-8,  $10^8$  cells; SC-10, 10 mg of supernatant concentrate; SC-100, 100 mg of supernatant concentrate.

양으로 매일 섭취한 마우스의 혈중 IgE 농도를 7일 간격으로 측정하였다(Fig. 3). 사균체를 섭취한 군은 14일차에 유발군에 비해 상대적으로 낮은 IgE 수치를 유의성 있게 나타냈다. 특히  $10^9$  cells의 농도로 섭취한 실험군에서는 28일차에 매우 유의적인 차이를 나타냈다( $P < 0.01$ ). 이는 RH3201의 사균체 섭취가 농도 의존적으로 IgE를 억제할 수 있다는 것을 확인한 결과이다. 하지만 상등액 농축액의 경우 높은 농도로 섭취한 군에서만 28일째에서야 유의적으로 낮아진 수치를 나타내었다. 앞서 확인한 독성실험과 IgE 억제능을 생각하면 균체와 상등액 농축물 모두 아토피를 억제하는 원료로서의 가능성을 가지고 있다고 할 수 있다.



**Fig. 4.** Influence of oral feeding with RH3201 cells and supernatant concentrate on IL-4 (A), IL-12 (B), and IFN-γ (C) cytokines production in the splenocytes from OVA-sensitized mice. IFN-γ/IL-4 ratios (D) were represented by relative values to vehicle group. A difference between samples and control group was considered statistically significant when \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , and \*\*\* $P < 0.001$ . Abbreviations were the same as Fig. 3.

### RH3201 투여에 의한 Th1/Th2 균형 변화

RH3201의 사균체와 상등액 농축물을 농도 별로 투여한 마우스군에서의 사이토카인 변화를 확인하였다(Fig. 4). 사균체를  $10^8$ ,  $10^9$  cells/day의 양으로 섭취시킨 결과, IgE의 비정상적인 증가를 일으키는 Th2 사이토카인인 IL-4의 수치를 농도의존적으로 감소시켰다. 또한 Th1 사이토카인인 IL-12와 IFN-γ는 IgE 합성을 저해하여 알레르기 진행을 억제하는 것으로 알려져 있는데(Borish, 1998), 이 두 사이토카인 모두 사균체 구강 투여에 의해 농도 의존적으로 증가하는 것을 확인하였다. 상등액 농축물의 경우 10 mg 섭취군에서는 유발군과 차이를 보이지 않았지만, 100 mg 섭취한 마우스군에서는 유의적으로 IL-4는 감소하고 IFN-γ는 증가하는 모습을 볼 수 있었다. Th1과 Th2 간의 비율인 IFN-γ/IL-4 수치는 증류수만 투여한 유발군에 비해 크게 향상된 모습을 보였다(Fig. 4D). 이러한 Th1/

Th2 비율의 변화는 농도 의존적이었으며, 시험군 농도 별 차이는 앞선 IgE의 양상과 유사하다. 따라서 OVA 유발군에서 사균체와 상등액 농축물이 마우스의 혈중 IgE 농도를 감소시키는 것은 Th2 사이토카인의 억제와 Th1 사이토카인의 증가를 통한 Th1/Th2 균형을 조절함으로써 나타난 결과로 생각할 수 있다.

### 적 요

본 연구에서는 우수한 아토피 완화능을 가진 유산균을 선별하기 위해 한국인 유아 분변으로부터 23종의 유산균을 분리하였다. 후보 균주들을 배양하여 열처리 된 세포와 상등액 농축물을 각각 얻었다. 우수 균주 선별은 마우스 비장세포를 이용하여 IL-4의 억제 및 IFN-γ의 증가 정도를 확인하는 실험을

통해 진행되었다. 선별 실험 결과로 *Lactobacillus rhamnosus* IDCC 3201 (RH3201)을 OVA로 면역 반응을 유발시킨 BALB/c 마우스에 투여할 유산균으로 선정하였다. RH3201의 균체와 대사물을 경구 투여한 군에서는 유발균에 비해 혈중 IgE의 과다 생성이 억제된 것을 확인하였다. 그러한 알레르기 억제능은 type-1 T helper (Th1) 세포와 type-2 T helper (Th2) 세포의 사이토카인 간의 균형을 향상시킴으로써 유도되었다. 따라서 RH3201의 균체와 배양물은 면역 조절을 통해 아토피 증상을 완화시킬 수 있음을 확인하였다.

## References

- Borish, L.** 1998. Updates on cell and cytokine. *J. Allergy Clin. Immunol.* **101**, 293-297.
- Chauviere, G., Coconnier, M.H., Kermeis, S., Arlette, D.M., Joly, B., and Alain, L.S.** 1992. Competitive exclusion of diarrheagenic *Escherichia coli* (EPEC) from human enterocyte-like Caco-2 cells by heat-killed *Lactobacillus*. *FEMS Microbiol. Lett.* **91**, 213-217.
- Claes, I., Segers, M., Verhoeven, T., Dusselier, M., Sels, B., Keersmaecker, S., Vanderleyden, J., and Lebeer, S.** 2012. Lipoteichoic acid is an important microbe-associated molecular pattern of *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Microb. Cell Fact.* **11**, 161.
- Cross, M.L., Stevenson, L.M., and Gill, H.S.** 2001. Anti-allergy properties of fermented foods : an important immunoregulatory mechanism of lactic acid bacteria. *Int. Immunopharmacol.* **1**, 891-901.
- Fujiwara, D., Inoue, S., Wakabayashi, H., and Fujii, T.** 2004. The anti-allergic effects of lactic acid bacteria are strain dependent and mediated by effects on both Th1/Th2 cytokine expression and balance. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **135**, 205-215.
- Gail, C.M.** 2007. Use of probiotics: Benefits of a balanced microbiome in the intestinal tract. *National Parent Club Canine Health Conference* pp. 19-21.
- Herich, R. and Levkut, M.** 2002. Lactic acid bacteria, probiotics and immune system. *Vet. Med. Czech.* **47**, 169-180.
- Ishida, Y., Nakamura, F., Kanzato, H., Sawada, D., Hirata, H., Nishimura, A., Kajimoto, O., and Fujiwara, S.** 2005. Clinical effects of *Lactobacillus acidophilus* strain L-92 on perennial allergic rhinitis : A double-blind, placebo-controlled study. *J. Dairy Sci.* **88**, 527-533.
- Kato, I., Tanaka, K., and Yokokura, T.** 1999. Lactic acid bacterium potently induces the production of interleukin-12 and interferon- $\gamma$  by mouse splenocytes. *Int. J. Immunopharmacol.* **21**, 121-131.
- Kelly, D., Conway, S., Aminov, R.** 2005. Commensal gut bacteria: mechanisms of immune modulation. *Trends Immunol.* **26**, 326-333.
- Majamaa, H. and Isolauri, E.** 1997. Probiotics : A novel approach in the management of food allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* **99**, 179-185.
- Retnaningtyas, L.P., Sudarmo, S.M., Harsono, A., and Damanik, S.M.** 2008. Effect of probiotic on the fecal sIgA level in preterm infants. *Paediatr. Indones* **48**, 246-252.
- Schwandner, R., Dziarski, R., Wesche, H., Rothe, M., and Kirsehnig, C.J.** 1999. Peptidoglycan and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. *J. Biol. Chem.* **274**, 1746-1749.
- Styriak, I., Nemcova, R., Chang, Y.H., and Ljungh, A.** 2003. Binding of extracellular matrix molecules by probiotic bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.* **37**, 329-333.
- Vercelli, D.** 1995. Immunoglobulin E regulation in humans, 1989-1994. *Allergy*, **50**, 5-8.
- Xu, M., Zhao, M., Yang, R., Zhang, Z., Li, Y., and Wang, J.** 2013. Effect of dietary nucleotides on immune function in Balb/C mice. *Int. Immunopharmacol.* **17**, 50-56.
- Yazdanbakhsh, M., Kreamsner, P.G., and van Ree, R.** 2002. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. *Science* **296**, 490-494.
- Yu, J.H., Jang, S.O., Kim, B.J., Song, Y.H., Kwon, J.W., Kang, M.J., Choi, W.A., Jung, H.D., and Hong, S.J.** 2010. The effects of *Lactobacillus rhamnosus* on the prevention of asthma in a murine model. *Allergy Asthma Immunol. Res.* **2**, 199-205.