

## Next-generation Probiotics, Parabiotics, and Postbiotics

Kwang Keun Cho<sup>1</sup>, Seung Ho Lee<sup>2</sup>, In Soon Choi<sup>3</sup> and Sang Won Lee<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Resources Technology, Gyeongsang National University, Gyeongnam 52725, Korea

<sup>2</sup>Department of Nano-Bioengineering, Incheon National University, 119 Academy-ro, Yeonsu-gu, Incheon 22012, Korea

<sup>3</sup>Department of Life Science, Silla University, Busan 46958, Korea

<sup>4</sup>Department of Pharmaceutical Engineering, Gyeongsang National University, Gyeongnam 52725, Korea

Received May 4, 2021 / Revised June 16, 2021 / Accepted June 17, 2021

Human intestinal microbiota play an important role in the regulation of the host's metabolism. There is a close pathological and physiological interaction between dysbiosis of the intestinal microflora and obesity and metabolic syndrome. *Akkermansia muciniphila*, which was recently isolated from human feces, accounts for about 1-4% of the intestinal microbiota population. The use of *A. muciniphila*-derived external membrane protein Amuc\_1100 and extracellular vesicles (EVs) could be a new strategy for the treatment of obesity. *A. muciniphila* is considered a next-generation probiotic (NGP) for the treatment of metabolic disorders, such as obesity. *Faecalibacterium prausnitzii* accounts for about 5% of the intestinal microbiota population in healthy adults and is an indicator of gut health. *F. prausnitzii* is a butyrate-producing bacterium, with anti-inflammatory effects, and is considered an NGP for the treatment of immune diseases and diabetes. Postbiotics are complex mixtures of metabolites contained in the cell supernatant secreted by probiotics. Parabiotics are microbial cells in which probiotics are inactivated. Paraprobiotics and postbiotics have many advantages over probiotics, such as clear chemical structures, safe dose parameters, and a long shelf life. Thus, they have the potential to replace probiotics. The most natural strategy to restore the imbalance of the intestinal ecosystem normally is to use NGPs among commensal bacteria in the gut. Therefore, it is necessary to develop new foods or drugs such as parabiotics and postbiotics using NGPs.

**Key words** : *A. muciniphila*, *F. prausnitzii*, next-generation probiotics, parabiotics, postbiotics

### 서 론

장의 장벽(intestinal barrier)은 장으로 침범하는 해로운 미생물과 항원에 대한 첫 번째 방어벽이다[22]. 장벽은 다층 시스템 구조로 배상세포(goblet cells)에서 분비되어 만들어지는 점액층과 상피세포 밀착 연결(epithelial tight junction) 형성으로 만들어지는 상피 세포 단층으로 되어 있다[47]. 또한 장 면역 체계와 미생물 군총은 장의 장벽 기능에서 중요한 구성 요소이다[22]. 장 장벽 기능이 손상되면 병원체, 알레르겐 및 내독소가 상피층을 통해 고유 층으로 이동한 다음 장간막 림프절(mesenteric lymph nodes)로 전이 될 수 있으며, 심지어 혈류로 침범하여 다른 무균기관(sterile organs)으로 전파 될 수 있다. 이 과정은 과민성 대장 증후군(IBS), 염증성 장 질환(IBD) 및 급성 간부전증을 포함한 다양한 장 관련 질병의 발병 기전에 중요한 역할을 한다[4]. 따라서 장의 장벽 강화를 목표

로 하는 접근법은 이러한 병리의 예방과 치료에 도움이 된다.

장내 유익한 박테리아(beneficial bacteria)는 인간의 건강 문제, 특히 소화기 건강에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 보고되어 있다[36]. 오늘날 식품 산업에서 "probiotics" 또는 유익한 박테리아로 판매되는 대부분의 미생물은 *Lactobacillus*와 *Bifidobacterium* 속(genera)에 속한다[15]. 그러나 이러한 미생물 속은 성인의 장내 미생물 군총에서 하위 우점종(sub-dominant)이다. 살아있는 미생물에 의해서 분비되거나 또는 용해 후 방출되는 가용성 인자(생성물 또는 대사 부산물)를 postbiotics라 하는데 probiotics와 동일한 방식으로 장 보호 기능을 한다[35]. Probiotics에서 파생된 postbiotics 성분은 인간의 건강에 유리하고 유망한 대체 보충제가 될 수 있다. 따라서 인간 미생물 유전체 정보의 빠른 확장과 함께 *Faecalibacterium prausnitzii*와 *Akkermansia muciniphila*, *Bacteroides fragillis*와 같은 장내 우점 미생물을 대상으로 next-generation probiotics 군주의 분리와 함께 이를 이용하여 안전한 식품으로서 parabiotics와 postbiotics가 개발되어야 한다.

#### \*Corresponding author

Tel : +82-55-772-3394, Fax : +82-55-772-3399

E-mail : dumul@gnu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

### 본 론

#### 인간의 장내 미생물

인간의 장내 미생물은 인체의 정상적인 발달과 기능을 위해

필수적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다[40]. 성인의 위-장관 중에 결장(colon)은 대사 활성을 가지는 미생물이 가장 높은 밀도( $>10^{11}$  bacteria per mL luminal content)로 존재한다[44]. 이러한 미생물 군에 의해 암호화 된 엄청난 수의 유전자(인간 게놈 유전자 수의 100 배 이상)는 숙주의 생화학적, 대사적 능력을 크게 확장시킨다[44]. 인간 혈액에 존재하는 대사산물의 1/3은 미생물 대사산물이며, 이는 장 항상성과 숙주 대사에 많은 영향을 미치고 있다[33].

인간의 장내에는 다양한 문(phyla)으로 구성된 약 1000 종(species) 이상의 박테리아가 서식하고 있는데 이러한 박테리아 종의 대부분은 Firmicutes와 Bacteroidetes 문으로 구성되어 있으며, 적은 양으로는 Actinobacteria, Proteobacteria 및 Verucomicrobia와 같은 다양한 문도 존재하고 있다[34]. Firmicutes 문에는 Lactobacillus, Mycoplasma, Bacillus, Eubacterium, Faecalibacterium, Ruminococcus, Roseburia 및 Clostridium 등 약 200여 종의 속(genera)이 포함되어 있으며, 장내 미생물 중 가장 큰 비율(60%)을 차지한다. Firmicutes는 숙주의 장에서 소화 불가능한 다당류(indigestible polysaccharides)를 분해하여 단쇄 지방산의 일종인 butyrate를 만드는 주요 생산자로 알려져 있다[16], Bacteroidetes 문은 전체 미생물 중 10% 정도를 차지하면서(Alistipes, Bacteroides, Parabacteroides, Porphyromonas, Prevotella 속 포함) 다양한 기질에 작용하여 propionate 등의 단쇄 지방산을 생산하는 것으로 알려져 있다[42]. Actinobacteria (Bifidobacterium과 Collinsella), Betaproteobacteria (Escherichia coli와 Desulfovibrio), Verrucomicrobia (Akkermansia muciniphila) 및 Fusobacteria 등은 일반적으로 건강한 장에 서식하는 수는 적다[32]. 전반적으로 이러한 박테리아 군집은 장내 미생물 균총을 형성하는 데 중요한 역할을 하고 있으며, 건강한 장 생태계는 주로 식이 패턴(vegetarian과 Western), 항생제, probiotics 및 생활 방식 등에 따라서 서식하는 미생물 구성이 달라지는 것으로 보고되어 있다[24]. 이러한 장 미생물 구성의 변화는 장 투과성 증가와 장 점막 면역 감소, 다양한 암 발병, 자가 면역 장애, 염증성 장 질환, 대사 증후군, 신경 퇴행성 질환 및 인슐린 저항성 등의 유발과도 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되어 있다[28].

### Next-generation probiotics

Akkermansia muciniphila는 최근 인간의 대변에서 분리된 절대 혐기성, 비운동성, 비포자 형성 및 타원형의 그람 음성균으로 mucine을 탄소원과 질소원으로 이용하는 유일한 세균[12]으로 장 상피세포 점액층의 영양소에 의해서 생육에 영향을 받고 있다[7]. 이러한 독특한 기능을 가지면서 보통 사람들의 모든 생애에 걸쳐 전체 장내미생물의 약 1-4%를 차지하는 A. muciniphila는 next-generation therapeutic probiotics로 적용받기 위한 새로운 연구를 활발히 진행하고 있다[10]. 최근의 연구에서 A. muciniphila는 생쥐의 대사와 면역 기능을 조절하

여 고지방 식이에 의한 생쥐의 비만을 억제한다는 사실이 밝혀졌으며[14], mucine을 분해하는 세균으로서 mucine을 분해할 수 있는 다른 병원성 박테리아에 대해서는 경쟁적 억제 능력을 가지고 있는 것으로 보고 되었다[8]. 이러한 연구 결과들은 A. muciniphila가 매우 유망한 probiotics 라는 것을 증명하고 있기 때문에 수 년 내에 A. muciniphila가 함유된 probiotics 제품의 출시도 기대된다. A. muciniphila는 mucin 유래 단당류 fucose, galactose와 N-acetylglucosamine을 이용할 수 있으며, mucin이 glucose, N-acetylglucosamine, peptone 및 threonine 조합으로 대체되는 합성 배지에서 배양시킬 수 있다[30]. 점액에 존재하고 점막 틈새(mucosal niche)에 대한 적응을 촉진하는 glucosamine-6-phosphate(GlcN6P)는 A. muciniphila의 배지 필수 성분이다. A. muciniphila의 외막(external membran) 단백질 중 Amuc\_1100은 가장 풍부한 단백질 중 하나로 pili의 형성과 관련 있으며, 박테리아와 toll-like receptors(TLR2) 사이의 상호 작용에 관여 한다. 또한, Amuc\_1100은 저온 살균 온도에서 안정된 상태를 유지하여 저온 살균 박테리아의 효과에 기여할 수 있다. Amuc\_1100은 고지방 식이로 인한 콜레스테롤과 중성지방혈증(triglyceridemia)을 감소시키는 것으로 보고되고 있다[27].

장내 미생물은 세포의 소포(extracellular vesicles; EVs)를 분비하여 다양한 신호 전달 경로를 조절할 수 있는 것으로 알려져 있다. 그람 음성 박테리아에 의해 만들어진 세포의 소포에는 지질 다당류(lipopolysaccharides), 핵산, 지질 및 단백질 등이 풍부하게 함유되어 있는데 이와 같은 물질들은 주변에 있는 바이오 폴리머와 박테리오파지, 세포 또는 유기체들과 상호 작용하며[45], 세포 상호간의 신호와 전달을 통하여 효소와 항균제 등의 생산을 촉진시킨다[38]. 이러한 과정은 박테리아가 환경적인 스트레스에 견딜 수 있도록 박테리아 집단을 형성하는 스트레스 대응반응으로 알려져 있다. 최근 연구에 따르면 세포의 소포는 mucus를 통과하여 상피세포로 내재화(internalizing) 할 수 있고, 고유층(lamina propria)의 면역 세포에 접근 할 수 있을 뿐만 아니라 면역 조절과 장 항상성 유지, 후생유전학에 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다[1, 6]. A. muciniphila와 A. muciniphila 유래 세포의 소포는 다양한 기전에 영향을 주어 고지방 식이 유발에 의한 비만을 개선하는 새로운 치료 전략으로 사용될 수 있다[3]. A. muciniphila는 비만, 당뇨병, 장 염증, 간 질환 및 만성 알코올 섭취와 같은 조건에서 더 낮게 존재한다. 이것은 혈장 LPS(lipopolysaccharide) 수치를 증가시키고 결국 낮은 수준의 염증과 대사 장애를 유발하는 장벽 기능과 관련되어 있다. A. muciniphila는 생균뿐만 아니라 사균도 TLR2에 작용하여 밀착 연결 발현 촉진, 장벽 기능 회복, 점액 두께 증가 및 대사 장애 개선 기능을 가지고 있다.

식습관의 서구화로 인해 발병하는 비만 및 심장대사 장애는 전 세계적으로 유행하고 있는 만성질환 중의 하나이다. 이와

같은 식생활 환경요인에 따라 변화하는 장내 미생물은 에너지 대사와 다양한 비전염성 질병에 대한 숙주 감수성을 억제하는 핵심 요소로 여겨지기 때문에 *A. muciniphila*는 차세대 유익 미생물(next-generation beneficial microbes) 중 가장 유망한 후보 균주이다. 실제로 *A. muciniphila*는 비만, 당뇨병, 심장 대사 질환 및 염증을 낮은 수준으로 억제하고 더욱이 저온살균 처리한 *A. muciniphila*는 안정성과 효능을 더욱 증가 시킨 것으로 보고되어 있다[2]. 이는 *A. muciniphila*가 새로운 식품 또는 의약품 보충제를 개발하기 위한 차세대 후보 미생물의 최전선에 위치하고 있다는 것을 의미한다. *A. muciniphila*의 외막에 존재하는 Amuc\_1100 단백질과 A. EVs는 향후 약물 개발을 위한 강력한 후보 소재가 될 수 있다. 결론적으로, 천연 약물학(pharmacognosy)으로 알려진 식물관련 지식이 약물을 설계하는 원천이 되었듯이 장내 미생물 균총에 대한 지식과 천연미생물학(microbiomegnosy)이 미래의 건강을 지키는 질병치료의 새로운 원천이 될 수 있다[10].

*F. prausnitzii*는 그람 양성, 중온성, 막대 모양의 혐기성, 비포자 형성 및 비운동성의 특성을 가지고 있다. *F. prausnitzii*의 genome 길이는 2,868,932 bp이고, GC 평균 함량은 56.9 %이다. 이 박테리아는 77 개의 RNA 유전자를 포함하여 2,707 개의 코딩 서열을 가지고 있다[5]. *F. prausnitzii*는 Firmicutes 문의 주요 구성원이며, 건강한 인간 미생물 군에서 가장 풍부한 박테리아 중 하나로 성인의 전체 분변 미생물 균총에서 약 5 %를 차지한다[17]. 또한, 이 박테리아는 인간 장 건강의 센서(sensor)이자 행위자(actor)이다. 실제로 *F. prausnitzii*의 수치는 염증성 장 질환(inflammatory bowel diseases, IBD), 과민성 대장 증후군(irritable bowel syndrome, IBS), 대장 암(colorectal cancer, CRC), 비만 및 셀리악병(celiac disease)과 같은 장과 대사 장애로 고통 받는 환자에서 감소하는 것으로 보고되어 있다[31]. *F. prausnitzii*의 상층액(supernatant)은 박테리아 자체보다 대장염 개선에 훨씬 더 강한 효과를 나타낸다[18]. 이것은 *F. prausnitzii*가 특정 물질을 상층액으로 분비하여 장 염증을 완화 시킨다는 것을 의미하며, *F. prausnitzii*의 상층액에 포함되어 있는 15kDa 단백질이 nuclear factor (NF)- $\kappa$ B pathway를 억제함으로써 IBD 모델에서 대장염을 개선하였다. *F. prausnitzii*의 상층액은 Th17/Treg 세포의 분화를 조절하여 IL-6/STAT3/IL-17 경로를 억제하고, Foxp3 촉진하여 항염증 효과를 나타내는 것으로 밝혀져 *F. prausnitzii* 균주는 next-generation probiotic로서 유망한 미생물이다[52].

장 염증 발생 부위의 점막 손상은 핵심 미신 성분 GalNAc를 포함한 다양한 영양소를 방출하여 *F. prausnitzii* L2-6 유형 박테리아와 기타 영양 요구성 기회주의 박테리아(auxotrophic opportunists)의 성장을 자극한다. *F. prausnitzii* 개체군에서 butyrate 생산 능력이 낮은 L2-6 유형 박테리아 증식은 A2-165 유형 박테리아와 같은 butyrate 생산 능력이 높은 박테리아의 증식을 억제한다. 이러한 변화는 butyrate와 propionate의 생

산을 감소시켜 염증 조절 장애를 유발하는 피드백 상호작용을 만든다. 장 상피세포의 투과성이 증가하면 음식, 독소 및 미생물 등이 혈액 순환계로 유입되면서 염증성 사이토카인 분비와 비정상적인 Th2 유형 면역반응을 유발하여 만성 아토피성 피부염이 진행된다[41].

Probiotic therapy는 주로 장 생태계 균형을 정상적으로 복원하는데 기반을 두고 있다. 따라서 장내에 우점하는 공생 박테리아(commensal bacteria)를 next-generation probiotics (NGPs)로 사용하는 것이 위-장관(gastrointestinal tract; GIT) 미생물 불균형 복원을 위해 가장 자연스런 방법이다[23]. 그럼에도 불구하고 *Lactobacilli*나 *Bifidobacteria* strains과는 대조적으로 이러한 NGPs는 유럽식품안전국(European Food Safety Authority; EFSA)의 QPS (Qualified Presumption of Safety)나 미국 FDA (Food and Drug Administration)가 사용하고 있는 GRAS (Generally Recognized As Safe organisms) 목록에 등록되어 있지 않다. *Faecalibacterium*과 같은 NGPs는 그동안 안전한 사용 기록이 없고 전체 독성 분석(full toxicology assays)과 균주 특성화(strain characterization)가 규제 승인에 필요하여 QPS 목록에 포함시키는 것이 어려울 수 있다[9]. 또한 1997년 이전에 유럽에서 전통적으로 사용되지 않았던 미생물은 새로운 식품으로 간주되어 유럽 시장에서 새로운 식품이나 약물로 사용하기 위한 규제 승인 조건이 기존의 probiotics 균주 보다 더 어렵다[23]. 따라서 next-generation probiotics를 대상으로 대변미생물이식술 균주와 parabiotics, postbiotics 제품으로 개발하는 것이 대안이 될 수 있다.

### Parabiotics와 postbiotics

장내 미생물 균총의 구성과 구조는 인간의 건전한 발달과 건강을 결정하는 중요한 요소 중의 하나이다[54]. Fig. 1에서 나타낸 바와 같이 건강한 사람(healthy people)을 하나의 주택으로 표현할 때 장내미생물 균총을 나타내는 지붕은 빗물의

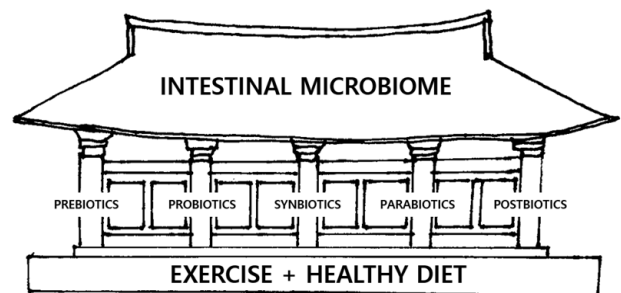


Fig. 1. Intestinal microbiome composition for healthy people. The roof that represents intestinal microbiome may be impermeable and reliable. A suitable diet and physical activity form the basis for the foundation. The pillars between “roof” and “foundation” that cement the construction are pre-, pro-, syn-, para- and postbiotics.

누수가 일어나지 않도록 튼튼한 재질의 불침투성(impermeable)이 있어야 하며, 견고한 하부 구조의 콘크리트 즉 적절한 식이요법과 신체활동은 주택 건축의 단단한 기초에 비유할 수 있을 것이다. 튼튼한 기초 위에서 지붕을 받치고 있는 기둥은 prebiotics, probiotics, synbiotics, parabiotics 및 postbiotics에 해당될 것이다. Prebiotics는 장내미생물의 성장 또는 활성을 유도하는 성분으로서 식이로 섭취한 물질이 장내 세균에 의해 발효되어 숙주의 건강에 유익한 효과를 발휘할 수 있는 물질이다. 현재 사용되고 있는 prebiotics로는 모유 올리고당(human milk oligosaccharides, HMO), lactulose 및 inulin 유도체 등을 들 수 있다.

대조적으로, probiotics는 유익한 미생물로 위-장관 미생물 군총에 직접 영향을 미친다. 2002년 세계 보건기구(WHO) 정의에 따르면 probiotics는 적절한 양으로 투여된 살아있는 미생물로 숙주 건강에 긍정적인 영향을 미치는 *Lactobacillus*와 *Bifidobacterium*, *Streptococcus* 속 등의 박테리아와 효모인 *Saccharomyces* 속 등을 말한다[54]. 또한 *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bacteroides* 및 *Clostridium* 속은 안전성 문제와 무관하게 next-generation probiotics로 부상하고 있다[26]. Synbiotics는 식품이나 사료에 첨가된 유익한 미생물(beneficial microorganisms)의 생존율을 향상시킬 뿐만 아니라 위 장관에 존재하는 특정 고유 박테리아 군주(specific native bacterial strains)의 증식을 촉진하기도 한다[25]. Synbiotics의 건강 효과는 probiotics와 prebiotics의 개별 조합(individual combination)과 관련되어 있다. 수 없이 많은 조합들의 경우를 고려할 때, 인간의 장내 미생물의 정상적인 균형 유지와 회복을 위한 synbiotics의 적용은 유망하다 할 수 있다[15].

Postbiotics는 숙주에서 생리적 활성을 나타내는 불활성화시킨 미생물의 산물 또는 대사산물로 정의할 수 있고, parabiotics(ghost 혹은 inactivated probiotics 라고도 함)는 불활성화시킨 미생물 세포(손상 또는 파손) 또는 세포 추출물(crude cell extracts)을 적절한 양으로 투여(경구 또는 국소)하였을 때 인간에게 유용한 효과를 나타내는 것이라 할 수 있다. 지금까지 국제규제기관이나 과학협회에서 정확하게 규정한 정의는 없지만 parabiotics는 사멸시켜 비활성화된 미생물로 구성되어 있으며, 테이코익산(teichoic acids), 펩티도글리칸(peptidoglycan) 유래의 mucopeptides, 세포 표면 돌출 분자(pili, fimbriae, flagella), polysaccharides, 세포 표면 단백질 및 세포벽 결합 바이오 계면 활성제(biosurfactants) 등이 포함된다[39]. Postbiotics는 건강한 대사산물 또는 세포가 없는 상층액에 함유되어 있는 probiotics 성분의 복잡한 혼합물로 효소, 분비된 단백질, 단쇄지방산, 비타민, 아미노산, 펩티드 및 유기산 등이다[21]. Postbiotics는 면역조절, 항염증, 지방/콜레스테롤 대사 및 항암/항산화 활성 등 다양한 특성을 나타내며, Treg 림

프구의 분화 유도 및 항염증성 사이토카인의 합성을 통하여 Th1과 Th2 림프구로 대표되는 두 면역계 사이의 불균형을 회복시킨다. Th1 림프구와 Th2 림프구 사이의 균형은 면역 조절에 필수적이며, 그 장애는 아토피 장애를 포함한 다양한 면역 질환을 유발한다. 항균 활성은 장 상피세포의 분자 구조에 의해 매개되어 장벽을 강화시킨다. Postbiotics는 살아있는 박테리아와 비교해 다음과 같은 몇 가지 약력학적 특성을 발휘하는 것으로 보고되어 있다[25, 29]. 1) 면역성이 약한 피험자의 장에서 혈액으로 세균이 전이 될 위험이 없다. 2) 항생제 저항 유전자 습득과 이전 가능성이 없다. 3) 보다 자연 상태로 추출, 표준화, 운송과 저장이 가능하다. 4) 미생물 세포 용해에 의한 생존 능력의 상실은 부가적인 유익한 효과를 생성할 수 있다. 5) 미생물 세포를 파쇄하여 얻은 모든 분자가 장 상피 세포에 직접 작용한다. Postbiotics는 미생물 세포에 효소 추출과 용매 추출, 초음파 처리 및 열 처리 등과 같은 화학적 혹은 기계적 방법 등을 사용하여 얻고 있으며 추출과 투석, 크로마토그래피 등은 원하는 물질의 분자를 분리하고 식별하는 데 사용되고 있다[48]. Postbiotics는 면역 체계의 성숙에 중요한 역할을 하고 있으며 장벽 견고성(barrier tightness)과 장 생태계(intestinal ecosystem)에도 영향을 미친다. 따라서 postbiotics는 효과적인 원인과 치료법이 아직 발견되지 않은 질병(예: 알츠하이머 병, 염증성 장 질환 또는 다발성 경화증)을 포함한 많은 난치성 질병의 치료나 예방에도 효과적일 수 있을 것으로 예측되고 있다[19]. 영유아의 경우 생후 첫 달째 장내 미생물 군총의 형성에 매우 중요하기 때문에 postbiotics는 영아에게 특히 중요하다고 할 수 있다. 미생물 군총은 약 3세까지 "성숙(matures)" 함에 따라, 모든 질병은 단기 또는 장기 발병(예: 괴사성 장염과 천식)과 연관될 수 있다[13]. 장내 미생물 군집의 구조와 대사 활성이 코로나 바이러스 질환(COVID-19) 과정을 예측하는 바이오 마커의 발생과 관련될 수 있기 때문에 postbiotics는 SARS-CoV-2 감염의 예방과 치료에도 유용할 수 있다[49]. *Faecalibacterium prausnitzii*(항염증성 세균)의 풍부함은 COVID-19 질병의 중증도와 역의 상관관계가 있으며 또한 *Bacteroides dorei*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides massiliensis* 및 *Bacteroides ovatus*는 장에서 angiotensin-converting enzyme2 (ACE2)의 발현을 억제하여 환자의 대변 내 SARS-CoV-2 부하와 역의 상관관계가 있다. 따라서 장내 미생물 군총을 변경하는 전략으로 COVID-19 질병의 심각성을 감소시킬 수 있다[55]. 최근 생쥐를 대상으로 행한 연구 결과에 의하면 장내에 lactic acid를 propionate로 대사시킬 수 있는 *Veillonella* 속 세균이 존재할 때 생쥐의 신체 기능이 크게 향상되는 것으로 나타났다. Propionic acid의 장내 투여에서도 이와 유사한 결과가 얻었는데 이는 postbiotics를 사용하여 신체기능(physical fitness)을 변화시킬 수 있다는 것을 의미한다[37].

## 결 론

간질환과 제 2형 당뇨병을 포함한 비만과 그 대사 증후군은 전 세계적으로 유행하며 식이요법과 밀접한 관련이 있다. 장내 미생물의 상호 작용은 에너지 대사와 면역 체계에 영향을 주어 비만 및 관련 대사질환 치료를 위한 연구의 뜨거운 주제가 되고 있다. *A. muciniphila*는 장의 점막층에 정착하여 기초 대사를 조절하며 비만과 연관되어 있어 대사장애 치료를 위한 가능성이 높은 next-generation therapeutic probiotics 군주로서 유망한 후보이다. 세포의 소포(EVs)는 그람 음성 및 양성 박테리아를 포함하여 장내미생물에서 분비되는 평균 직경이 20~200 nm 구형의 지질 이중 층 구조이며 미생물 군집에서 다양한 역할을 한다. 또한 세포 외 소포는 면역세포 및 상피세포와 직접 상호작용하여 여러 신호전달 경로를 통하여 숙주-병원체 간의 상호작용을 매개하기 때문에 *A. muciniphila* 유래 세포의 소포의 이용은 비만치료를 위한 새로운 전략이 될 수 있을 것이다.

*F. prausnitzii*는 next-generation probiotic로서 건강한 성인의 경우 총 장내미생물 군총의 약 5%를 차지하며 *Clostridium clusters* IV 및 XIVa와 함께 butyrate를 생성하는 박테리아 중의 하나이다[18]. *F. prausnitzii*의 상대적 풍부도는 성인 장 건강의 지표 또는 바이오 마커 역할을 하며, 염증성 질병(inflammatory diseases) 예방과 치료에 도움을 준다[31]. *F. prausnitzii*에 의해 발휘되는 항염증(anti-inflammatory) 효과의 기전은 다음과 같다. (1) 이 박테리아의 혐기성 성장 과정에서 생성된 butyrate는 NF- $\kappa$ B 활성화를 제한하여 숙주 세포에서 염증성 사이토카인(pro-inflammatory cytokines)의 생성을 억제한다. (2) *F. prausnitzii*는 말초 혈액 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cell)와 수지상 세포(dendritic cells)에서 상대적으로 많은 양의 IL-10을 유도 할 수 있는 능력이 있으며, Foxp3 + Tregs의 생성을 유도하고 장 점막에서 억제 활성을 향상시킨다.

장 생태계의 불균형을 정상적으로 복원하기 위해서 공생 박테리아(commensal bacteria) 중 next-generation probiotics (NGPs)를 사용하는 것이 가장 자연스런 방법이다[29]. 따라서 next-generation probiotic로서 유망한 *A. muciniphila*와 *F. prausnitzii* 균주를 장내미생물 이식기술을 위한 균주로 또는 parabiotics와 postbiotics와 같은 새로운 식품이나 약품으로 개발하는 것이 필요하다.

## 감사의 글

이 논문은 2020년도 경상국립대학교 교원연구활성화 지원 사업의 예산지원으로 수행되었음.

## The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest

with the contents of this article.

## References

- Ahmadi Badi, S., Moshiri, A., Fateh, A., Rahimi Jamnani, F., Sarshar, M., Vaziri, F. and Siadat, S. D. 2017. Microbiota-derived extracellular vesicles as new systemic regulators. *Front. Microbiol.* **8**, 1610. doi: 10.3389/fmicb.2017.01610.
- Ashrafian, F., Behrouzi, A., Shahriary, A., Ahmadi Badi, S., Davari, M., Khatami, S., Rahimi Jamnani, F., Fateh, A., Vaziri, F. and Siadat, S. D. 2019. Comparative study of effect of *Akkermansia muciniphila* and its extracellular vesicles on toll-like receptors and tight junction. *Gastroenterol. Hepatol. Bed. Bench.* **12**, 163-168.
- Ashrafian, F., Shahriary, A., Behrouzi, A., Moradi, H. R., Keshavarz Azizi Raftar, S., Lari, A., Hadifar, S., Yaghoobfar, R., Ahmadi Badi, S., Khatami, S., Vaziri, F. and Siadat, S. D. 2019. *Akkermansia muciniphila*-derived extracellular vesicles as a mucosal delivery Vector for amelioration of obesity in mice. *Front. Microbiol.* **10**, 2155. doi: 10.3389/fmicb.2019.02155. eCollection 2019.
- Assimakopoulos, S. F., Triantos, C., Maroulis, I. and Gogos, C. 2018. The role of the gut barrier function in health and disease. *Gastroenterol. Res.* **11**, 261-263.
- Bag, S., Ghosh, T. S. and Das, B. 2017. *Faecalibacterium prausnitzii* isolated from the gut of a healthy indian adult. *Genome Announc.* **5**, doi:10.1128/genomeA.01286-17. PMC 5690339. PMID 29146862.
- Behrouzi, A., Vaziri, F., Rad, F. R., Amanzadeh, A., Fateh, A., Moshiri, Khatami, S. and Siadat, S. D. 2018. Comparative study of pathogenic and non-pathogenic *Escherichia coli* outer membrane vesicles and prediction of host-interactions with TLR signaling pathways. *BMC Res. Notes* **11**, 539. doi: 10.1186/s13104-018-3648-3.
- Belkaid, Y. and Hand, T. W. 2014. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell* **157**, 121-141.
- Belzer, C. and de Vos, W. M. 2012. Microbes inside - from diversity to function: the case of *Akkermansia*. *ISME J.* **6**, 1449-1458.
- Brodmann, T., Endo, A., Gueimonde, M., Vinderola, G., Kneifel, W., de Vos, W. M., Salminen, S. and Gómez-Gallego, C. 2017. Safety of novel microbes for human consumption: practical examples of assessment in the European Union. *Front. Microbiol.* **8**, 1725. doi: 10.3389/fmicb.2017.01725.
- Cani, P. D. and de Vos, W. M. 2017. Next-generation beneficial microbes: the case of *Akkermansia muciniphila*. *Front. Microbiol.* **8**, 1765. doi:org/10.3389/fmicb.2017.01765
- Delgado, S., Cabrera-Rubio, R., Mira, A., Suárez, A. and Mayo, B. 2013. Microbiological survey of the human gastric ecosystem using culturing and pyrosequencing methods. *Microb. Ecol.* **63**, 763-772.
- Derrien, M., Vaughan, E. E., Plugge, C. M. and de Vos, W. M. 2004. *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **54**, 1469-1476.

13. DeWeerd, S. 2018. How baby's first microbes could be crucial to future health. *Nature* **555**, S18-S19.
14. Everard, A., Belzer, C., Geurts, L., Ouwerkerk, J. P., Druart, C., Bindels, L. B., Guiot, Y., Derrien, M., Muccioli, G. G., Delzenne, N. M., de Vos, W. M. and Cani, P. D. 2013. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **110**, 9066-9071.
15. Foligne, B., Daniel, C. and Pot, B. 2013. Probiotics from research to market: the possibilities, risks and challenges. *Curr. Opin. Microbiol.* **16**, 284-292.
16. Graf, D., Di Cagno, R., Fåk, F., Flint, H. J., Nyman, M., Saarela, M. and Watzl, B. 2015. Contribution of diet to the composition of the human gut microbiota. *Microb. Ecol. Health Dis.* **26**, 26164. doi: 10.3402/mehd.v26.26164.
17. Hold, G. L., Schwartz, A., Aminov, R. I., Blaut, M. and Flint, H. J. 2003. Oligonucleotide probes that detect quantitatively significant groups of butyrate producing bacteria in human feces. *Appl. Environ. Microbiol.* **69**, 4320-4324.
18. Huang, X. L., Zhang, X., Fei, X. Y., Chen, Z. G., Hao, Y. P., Zhang, S., Zhang, M. M., Yu, Y. Q. and Yu, C. G. 2016. *Faecalibacterium prausnitzii* supernatant ameliorates dextran sulfate sodium induced colitis by regulating Th17 cell differentiation. *World J. Gastroenterol.* **22**, 5201-5210.
19. Khan, I., Ullah, N., Zha, L., Bai, Y., Khan, A., Zhao, T., Che, T. and Zhang, C. 2019. Alteration of gut microbiota in inflammatory bowel disease (IBD): cause or consequence? IBD treatment targeting the gut microbiome. *Pathogens* **8**, 126. doi: 10.3390/pathogens8030126.
20. König, J., Wells, J., Cani, P. D., García-Ródenas, C. L., Macdonald, T., Mercenier, A., Whyte, J., Troost, F. and Brummer, R. J. 2016. Human intestinal barrier function in health and disease. *Clin. Transl. Gastroenterol.* **7**, e196. doi: 10.1038/ctg.
21. Mantziari, A., Salminen, S., Szajewska, H. and Malagón-Rojas, J. N. 2020. Postbiotics against pathogens commonly involved in pediatric infectious diseases. *Microorganisms* **8**, 1510. doi: 10.3390/microorganisms8101510.
22. Martens, E. C., Neumann, M. and Desai, M. S. 2018. Interactions of commensal and pathogenic microorganisms with the intestinal mucosal barrier. *Nat. Rev. Microbiol.* **16**, 457-470.
23. Miquel, S., Beaumont, M., Martin, R., Langella, P., Braesco, V. and Thomas, M. 2015. A proposed framework for an appropriate evaluation scheme for microorganisms as novel foods with a health claim in Europe. *Microb. Cell Fact.* **14**, 48. doi: 10.1186/s12934-015-0229-1.
24. Moreno-Indias, I., Cardona, F., Tinahones, F. J. and Queipo-Ortuño, M. I. 2014. Impact of the gut microbiota on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Front. Microbiol.* **5**, 190. doi: 10.3389/fmicb.2014.00190.
25. Nataraj, B. H., Ali, S. A., Behare, P. V. and Yadav, H. 2020. Postbiotics-parabiotics: the new horizons in microbial biotechnology and functional foods. *Microb. Cell Fact.* **19**, 168. doi: 10.1186/s12934-020-01426-w.
26. O'Toole, P. W., Marchesi, J. R. and Hill, C. 2017. Next-generation probiotics: the spectrum from probiotics to live biotherapeutics. *Nat. Microbiol.* **25**, 17057. doi: 10.1038/nmicrobiol.2017.57.
27. Ottman, N., Huuskonen, L., Reunanen, J., Boeren, S., Klievink, J., Smidt, H., Belzer, C. and de Vos, W. M. 2016. Characterization of outer membrane proteome of *Akkermansia muciniphila* reveals sets of novel proteins exposed to the human intestine. *Front. Microbiol.* **7**, 1157. doi: 10.3389/fmicb.2016.01157.
28. Patterson, E., Ryan, P. M., Cryan, J. F., Dinan, T. G., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F. and Stanton, C. 2016. Gut microbiota, obesity and diabetes. *Postgrad. Med. J.* **92**, 286-300.
29. Piqué, N., Berlanga, M. and Miñana-Galbis, D. 2019. Health benefits of heat-killed (Tyndallized) probiotics: an overview. *Int. J. Mol. Sci.* **20**, 2534. doi: 10.3390/ijms20102534.
30. Plovier, H., Everard, A., Druart, C., Depommier, C., Van Hul, M., Geurts, L., Chilloux, J., Ottman, N. and Duparc, T. 2017. A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurized bacterium improves metabolism in obese and diabetic mice. *Nat. Med.* **23**, 107-113.
31. Rajilic-Stojanovic, M., Biagi, E., Heilig, H. G., Kajander, K., Kekkonen, R. A., Tims, S. and de Vos, W. M. 2011. Global and deep molecular analysis of microbiota signatures in fecal samples from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* **141**, 1792-1801.
32. Reichardt, N., Duncan, S. H., Young, P., Belenguer, A., McWilliam, L. C., Scott, K. P., Flint, H. J. and Louis, P. 2014. Phylogenetic distribution of three pathways for propionate production within the human gut microbiota. *ISME J.* **8**, 1323-1335.
33. Richards, L. B., Li, M., van Esch, B. C. A. M., Garssen, J. and Folkerts, G. 2016. The effects of short chain fatty acids on the cardiovascular system. *Pharma. Nutr.* **4**, 68-111.
34. Ruiz, L., Delgado, S., Ruas-Madiedo, P., Sánchez, B. and Margolles, A. 2017. *Bifidobacteria* and their molecular communication with the immune system. *Front. Microbiol.* **8**, 2345. doi: 10.3389/fmicb.2017.02345.
35. Russo, E., Giudici, F., Fiorindi, C., Ficari, F., Scaringi, S. and Amedei, A. 2019. Immunomodulating activity and therapeutic effects of short chain fatty acids and tryptophan postbiotics in inflammatory bowel disease. *Front. Immunol.* **10**, 2754. doi: 10.3389/fimmu.2019.02754. eCollection 2019.
36. Sanders, M. E., Lenoir-Wijnkoop, I., Salminen, S., Merenstein, D. J., Gibson, G. R., Petschow, B. W., Nieuwdorp, M., Tancredi, D. J., Cifelli, C. J., Jacques, P. and Pot, B. 2014. Probiotics and prebiotics: prospects for public health and nutritional recommendations. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1309**, 19-29.
37. Scheiman, J., Lubert, J. M., Chavkin, T. A., MacDonald, T., Tung, A., Pham, L. D., Wibowo, M. C., Wurth, R. C., Punthambaker, S., Tierney, B. T., Yang, Z., Hattab, M. W., Avila-Pacheco, J., Clish, C. B., Lessard, S., Church, G. M. and Kostic, A. D. 2019. Meta-omics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism. *Nat. Med.* **25**, 1104-1109.
38. Schulz, E., Goes, A., Garcia, R., Panter, F., Koch, M., Müller, R., Fuhrmann, K. and Fuhrmann, G. 2018. Biocompatible

- bacteria-derived vesicles show inherent antimicrobial activity. *J. Control. Release.* **290**, 46-55.
39. Singh, A., Vishwakarma, V. and Singhal, B. 2018. Metabiotics: the functional metabolic signatures of probiotics: current state-of-art and future research priorities-metabiotics: probiotics effector molecules. *Adv. Biosci. Biotechnol.* **9**, 720-726.
  40. Sommer, F. and Bäckhed, F. 2013. The gut microbiota- masters of host development and physiology. *Nat. Rev. Microbiol.* **11**, 227-238.
  41. Song, H., Yoo, Y., Hwang, J., Na, Y. C. and Kim, H. S. 2016. *Faecalibacterium prausnitzii* subspecies-level dysbiosis in the human gut microbiome underlying atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* **137**, 852-860.
  42. Soverini, M., Turrone, S., Biagi, E., Quercia, S., Brigidi, P., Candela, M. and Rampelli, S. 2017. Variation of carbohydrate-active enzyme patterns in the gut microbiota of Italian healthy subjects and Type 2 Diabetes Patients. *Front. Microbiol.* **8**, 2079. doi: 10.3389/fmicb.2017.02079.
  43. Tap, J., Mondot, S., Levenez, F., Pelletier, E., Caron, C., Furet, J. P., Ugarte, E., Muñoz-Tamayo, R., Paslier, D. L., Nalin, R., Dore, J. and Leclerc, M. 2009. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. *Environ. Microbiol.* **11**, 2574-2584.
  44. The human microbiome project consortium. 2012. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* **486**, 207-214.
  45. Toyofuku, M., Nomura, N. and Eberl, L. 2019. Types and origins of bacterial membrane vesicles. *Nat. Rev. Microbiol.* **17**, 13-24.
  46. Tuohy, K. M. and Scott, K. P. 2015. "The microbiota of the human gastrointestinal tract: a molecular view" in diet-microbe interactions in the gut. pp. 1-15. Tuohy, K. M. and Del Rio, D. (eds.), Elsevier, London.
  47. Turner, J. R. 2009. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* **9**, 799-809.
  48. Ueno, N., Fujiya, M., Segawa, S., Nata, T., Moriichi, K., Tanabe, H., Mizukami, Y., Kobayashi, N., Ito, K. and Kohgo, Y. 2011. Heat-killed body of *Lactobacillus brevis* SBC8803 ameliorates intestinal injury in a murine model of colitis by enhancing the intestinal barrier. *Inflamm. Bowel. Dis.* **17**, 2235-2250.
  49. Viana, S. D., Nunes, S. and Reis, F. 2020. ACE2 imbalance as a key player for the poor outcomes in COVID-19 patients with age-related comorbidities-Role of gut microbiota dysbiosis. *Ageing Res. Rev.* **62**, 101123. doi: 10.1016/j.arr.2020.101123.
  50. Walker, A. W., Duncan, S. H., Louis, P. and Flint, H. J. 2014. Phylogeny, culturing, and metagenomics of the human gut microbiota. *Trends Microbiol.* **22**, 267-274.
  51. Zhang, T., Li, Q., Cheng, L., Buch, H. and Zhang, F. 2019. *Akkermansia muciniphila* is a promising probiotic. *Microb. Biotechnol.* **12**, 1109-1125.
  52. Zhou, L., Zhang, M., Wang, Y., Dorfman, R. G., Liu, H., Yu, T., Chen, X., Tang, D., Xu, L., Yin, Y., Pan, Y., Zhou, Q., Zhou, Y. and Yu, C. 2018. *Faecalibacterium prausnitzii* produces butyrate to maintain Th17/Treg balance and to ameliorate colorectal colitis by inhibiting histone deacetylase 1. *Inflamm. Bowel. Dis.* **24**, 1926-1940.
  53. Zoetendal, E. G., Raes, J., van den Bogert, B., Arumugam, M., Booijink, C. C., Troost, F. J., Bork, P., Wels, M., de Vos, W. M. and Kleerebezem, M. 2012. The human small intestinal microbiota is driven by rapid uptake and conversion of simple carbohydrates. *ISME J.* **6**, 1415-1426.
  54. Żółkiewicz, J., Marzec, A., Ruszczyński, M. and Feleszko, W. 2020. Postbiotics-a step beyond pre- and probiotics. *Nutrients* **12**, 2189. doi: 10.3390/nu12082189.
  55. Zuo, T., Liu, Q., Zhang, F., Lui, G. C., Tso, E. Y., Yeoh, Y. K., Chen, Z., Boon, S. S., Chan, F. K., Chan, P. K. and Ng, S. C. 2020. Depicting SARS-CoV-2 faecal viral activity in association with gut microbiota composition in patients with COVID-19. *Gut* **70**, 276-284.

## 초록 : Next-generation probiotics, parabiotics 및 postbiotics

조광근<sup>1</sup> · 이승호<sup>2</sup> · 최인순<sup>3</sup> · 이상원<sup>4\*</sup>

(<sup>1</sup>경상국립대학교 생명과학대학 동물소재공학과, <sup>2</sup>인천대학교 생명공학부 나노바이오 전공, <sup>3</sup>신라대학교 의생명과학대학 생명과학과, <sup>4</sup>경상국립대학교 생명과학대학 제약공학과)

사람의 장내 미생물은 숙주의 대사 조절에서 중요한 역할을 한다. 장내 미생물 군총의 불균형은 비만, 대사 증후군과 밀접하게 병리학적, 생리학적 상호작용을 한다. *A. muciniphila*는 최근 인간의 대변에서 분리되었으며, 장내 미생물의 약 1-4%를 차지하는 우점균이다. *A. muciniphila* 유래 외막(external membran) 단백질 Amuc\_1100과 세포외 소포(EVs)의 이용은 비만치료를 위한 새로운 전략이 될 수 있다. *A. muciniphila*는 비만과 같은 대사 장애 치료를 위한 차세대 probiotics로 고려되고 있다. *F. prausnitzii*는 next-generation probiotic로서 건강한 성인의 경우 장내미생물 군총의 약 5%를 차지하며 성인 장 건강의 지표이다. *F. prausnitzii*는 butyrate-producing bacterium로서 항염증 효과를 나타내며, 면역 질환과 당뇨병 치료를 위한 next-generation probiotics로 기대된다. Postbiotics는 probiotics에 의해 분비되는 세포 상층액에 포함된 대사산물의 복잡한 혼합물이다. 반면, parabiotics는 probiotics를 불활성화 시킨 미생물 세포이다. Paraprobiotics와 postbiotics는 probiotics에 비해 명확한 화학 구조(clear chemical structures)와 안전한 투여 용량(safety dose parameters), 장기간의 유통 기간(longer shelf life) 등 많은 장점을 가지고 있어서 probiotics를 대체할 수 있는 잠재력을 가지고 있다. 장 생태계의 불균형을 정상적으로 복원하기 위해서 장내 공생 박테리아(commensal bacteria) 중 next-generation probiotics (NGPs)를 사용하는 것이 가장 자연스런 방법이다. 따라서 next-generation probiotics 를 대상으로 parabiotics와 postbiotics 와 같은 새로운 식품이나 약품으로 개발하는 것이 필요하다.