



Korean Anti-Aging Medical Association

2004 대한노인학회연합회 국제학술대회

제 1 부 Optimization of body components (I)

- 노화방지를 위한 실제적 레이저 술기 (심층박파술, 레이저 하안검 지방 절제술)
- 체지방 평가 및 그에 따른 처치
- 체성분과 성장호르몬의 효과

제 2 부 Optimization of body components (II)

- 골다공증과 보조제
- 골관절 노화방지 및 보조제

제 3 부 Topic lecture

- 외래에서 필요한 실제적 미용성형 술기

제 4 부 Men's health

- 남성호르몬 보충 요법의 최신지견
- 심혈관 노화와 약물적 예방
- 노화와 성기능 장애

제 5 부 Nutrition, Vitamins and Minerals

- 화장품으로서의 비타민 (피부노화방지 비타민)
- 유산균 제제 (EF 2001)의 항증상 작용, 진통작용 방사선 방호 효과에 관한 연구 (면역증진 유산균)
- 항산화제와 천연 영양소



대한노인학회
Korean Anti-Aging Medical Association

유산균 제제 (EF 2001)의 항종양 작용, 진통작용 방사선 방호 효과에 관한 연구

(면역증진 유산균) *BRM & Lactic acid bacteria*

 일본스즈카대학
 구연화

요약

선행 연구에 의해 시사했던, 유산 구균의 여러 면역 증강 작용(1-2), 항균 작용(3-4), 항암작용(5)과 성인병 예방 작용(6-8) 등의 효력을 살려, 유산균 제제(EF2001)을 이용함에 따라, 인체에 부작용이 없는 안전성이 높은 약제에 의한 면역 증강 작용, 항균 작용, 항암작용, 성인병 예방 작용, 방사선 방호 효과에 대해서 검토한다.

본 연구에서는, 유산 구균의 여러 효과 중에서 특히 면역 증강 작용에 주목해 항암작용, 항성인병 효과 및 방사선에 대한 방호 효과를 검토했다. 따라서, 유산 구균의 면역 증강 효과의 기초 연구에 데이터를 기여하는 것을 목적으로 했다. 유산균 제제의 주로 물 가용성 균체 성분을 포함한 분핵에 대해서 림프구 대 다행핵 백혈구 비 증가 작용(L/P활성)의 면역 활성이 인정되었다. 이러한 분핵에 대하여 마우스에 있어서의 Meth A 섬유 육종에 대한 항 종양 작용 및 진통작용에 대해서 검토했다. 또, 유산균의 면역계에 미치는 효과에 대해서는 다방면으로 연구하여 그 중에서도 항 종양 작용, 면역 활력 작용, interferon 증강 작용, 혈압 강하 작용, 백혈병 바이러스 증식 억제 작용 등이 이미 보고되어 있다. 유산균 제제으로부터 얻을 수 있던 수용성 분핵에 의한 항 종양 효과와 진통작용에 대해서도 보고했다. 유산균의 수용성 분핵을 젤 여과, 액체 크로마토그래피로 부분 정제 해, 림프구/ 다행핵 백혈구 비 증가 작용(L/P활성)을 조사했다. 유산균에는, 정장 작용이나 장내 세균총의 정상화 등 소화 기능에 대한 개선 효과가 있는 것이 이전부터 알려져 있어 면역 능력 촉진 작용, 혈압 저하 작용, 호중구 및 마크로파지 등의 식세포의 활성화 등이 보고되어 있다. 유산균에는 정장 작용이나 비상재성의 병원성 세균 증식의 억제, 전신성 면역의 활력 작용 등, 생체에 유용한 효과가 있다. 이번, 유산균(EF-2001)의 항 종양 작용 및 면역 기능에의 영향에 대해서 검토했다. 유산균 제제의 수용성 분핵은 200 μ g/mouse 투여 후 6, 10, 14 일째에 의의가 있었다. 항 종양 작용은 양측 하복부 이식 종양의 증식 억제 경향이 인정되어 직접 작용과 숙주 개재성을 고려할수있다. 진통 작용은, 1000 mg/kg p.o.로 Writhing 수의 억제 효과($P<0.05$)가 인정되었다. 또, 적출 종양 중량도 EFS 및

Zymosan 투여군 모두 의의가 있었다. EFI 투여군에서는 유의한 종양 증식 억제 효과는 인정되지 않았다. 수용성 분핵(EFS)에는 사이트 카인, 모노 카인의 유도, NK세포의 활성 증강 등이 있는 것으로 추측되었다.

Meth-A fibrosarcoma 이식 후 3, 4, 5 일째에 EF-2001(1 mg/nouse)을 종양내 투여했더니 11 일째 이후, 대조군과 비교하여 유의($P<0.05$)하게 종양 증식을 억제했다. 또, Sarcoma-180 이식 후 3, 4, 5 일째에 EFS(1 mg/nouse) 및 EFI(1 mg/nouse)를 종양내 투여했더니 EFS 투여군은 이식 후 6 일째부터 유의($P<0.01$)하게 종양 증식을 억제했다. EFI 투여군에서는 유의한 증식 억제 효과는 인정되지 않았다. SRBC에 대한 적혈구 응집 반응을 검토한 결과, 항체생성능의 증강이 인정되었다. 유산균의 기능으로서 정장 작용, 비 상재성의 병원성 세균 증식의 억제, 전신성 면역의 활력 작용 등, 생체에 유용한 효과를 미쳐, 장내 세균으로서의 유산균의 존재는 중요하며, Enterococcus faecalis EF-2001 가열사균체에 있어서의 고형암에 대한 항 종양 작용 및 림프구 활성화에 대해서도 유효했다. 또한, 방사선 방호 효과도 밝혀졌다.

【연구 목적】

유산 구균의 면역 증강 작용, 항균 작용, 항암작용이나 성인병 예방 작용등의 효력을 살려, 유산균 제제(EF2001)을 이용하는 것으로써, 인체에 부작용이 없는 안전성이 높은 약제에 효과에 대해서 검토한다. 본 연구에서는, 유산 구균의 여러효과 중에서 면역 증강 작용에 주목해 항암작용, 항성인병 효과 및 방사선에 대한 방호 효과를 검토했다. 따라서, 유산 구균의 면역 증강 효과의 기초 연구에 데이터를 기여하는 것을 목적으로 했다. 또, 유산균에는, 정장 작용이나 장내 세균총의 정상화 등 소화 기능에 대한 개선 효과가 있는 것이 이전부터 알려져 있어 면역 능력 촉진 작용, 혈압 저하 작용, 호흡 공 및 마크로파지등의 식세포의 활성화, 면역 기능에의 영향에 대해서 검토했다.

【연구 방법】

ICR 마우스를 이용하여 1주일의 예비 사육을 한다음, 실험에 사용했다. Conventional한 조건하에서 사육했다. 사육실은, 평기 AM6:00시에서 PM6:00까지 라이트 콘트롤 했다. 실온은, 22 ± 2 °C, 습도는, 60~65%로 했다. 사료 및 물은, 자유 섭취 시켰다. 유산 구균은, BRM사의 EF2001를 사용했다. 통계학적 처리는, Wilcoxon 및 T-검정을 했다.

추출 방법은 유산균 제제 20 g에 증류수 200 ml를 더해 실온에서 2시간 교반 한 후, 5000 rpm, 30 min로 원심분리해, 상등액을 건조 시켜, 물 추출 유산균 제제을 구했다. 림프구 대 다형핵 백혈구 비 증가 작용(L/P비)은 Hand들의 방법에 준해 실시했다. 생후 12~24시간 이내의 Swiss-Webstar계 마우스 한 배에서 태어난 신생쥐를 2군으로 나누어 대조군에는 생리 식염수를, 검사대상 검체군에는 물 추출 유산균 제제 200마이크로g/mouse를 복강내 주사했다. 주사전, 주사 후 6, 10, 14 일째에 꼬리 정맥에서 채혈해, 박층 혈액 도말 표본을 작성해 라이트 염색법 1)에 의해 염색

했다. 메카니컬 스테이지 첨부 현미경(10×40 배)을 이용해 림프구와 다형핵 백혈구를 총계 100 개 수L/P비라고 했다. 효력의 판정은 t-검정에 의해 5%이하의 위험률로 유의차가 있을 경우를 유효라고 했다.

라이트 염색법은, 바람 전조 혈액 도말 표본을 라이트 염색액으로 피복 해, 2, 3분 방치했다. 거의 동량의 인산 완충액을 적하하여 염색대를 흔들어 잘 혼합 해 2~6분 방치했다. 염색액을 버려 수도 물로 염색액을 완전하게 씻어 말렸다.

Ebina들의 Double-grafted tumor system 법에 준해 실시했다. BALB/c 웅성 마우스(6주)의 우측 및 좌측 하복부에 각각 1×10^6 개 및 2×10^6 개의 Meth-A fibrosarcoma 세포를 이식했다. 종양 세포 이식 후 3, 4, 5 일째의 합계 3회, 대조군에는 생리 식염수를 검사대상 투여군에는 물 추출 BeRMKAIN 1000(1mg/0.1 ml/mouse)을 우측 하복부에 직접 투여(IT)했다. 측정은 종양 이식 후 3 일째부터 격일에 25 일째까지 합계 12회, 피부 위에서 노기스로 종양의 장경과 단경을 측정해, 그 체적을 구하여 종양 증식의 경시적 변화를 구했다. 25 일째에 종양을 골라내 중량을 측정했다. 효력의 판정은 t-검정에 의해 5%이하의 위험률로 유의차가 있을 경우를 유효라고 했다.

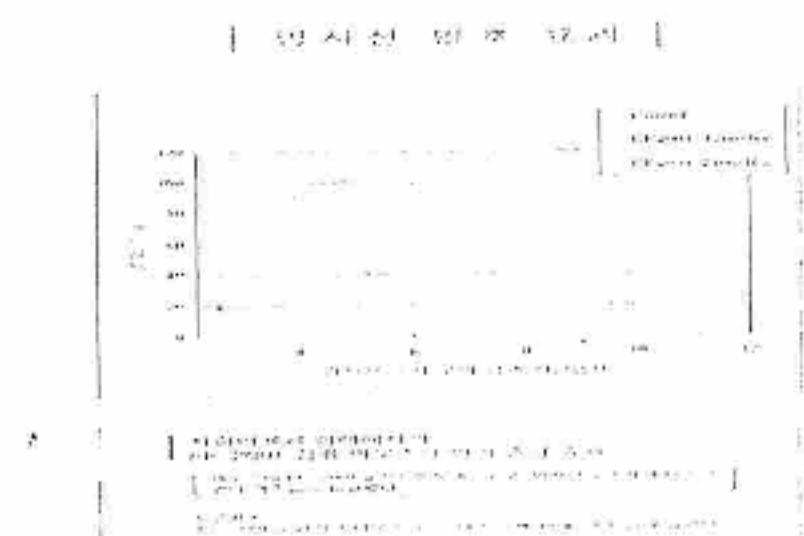
진통작용은, Winter들의 방법론에 의해 실시했다. ddy 웅성 마우스를 4시간 절식 후, 대조군에는 물(10ml/kg)을, 검사대상 투여군에는 물추출 유산균 제제(1000 mg/kg)을, Positive-대조군에게 Aspirin aluminum(500 mg/kg)를 각각 경구투여했다. 1 시간후에 0.7%초산 생리 식염수를 복강내 투여(10 ml/kg)해, 10 분후에서 10분 간의 Writhing 회수를 측정해 대조군과의 억제 효과를 조사했다. 효력의 판정은 t-검정에 의해 5%이하의 위험률로 유의가 있을 경우를 유효라고 했다.

항 종양 작용은, BALB/c 웅성 마우스(6주) 1군 10 마리의 우측 및 좌측 하복부 피하에, 각각 1×10^6 개 및 2×10^6 개의 Meth A fibrosarcoma 세포(복수암)을 접종 해, 종양 증식의 크기를 접종 후 3 일째부터 격일간격으로 25 일째까지 합계 12회, 피부 위에서 노기스로 종양의 장경과 단경을 측정, 그 적을 요구 경시적 변화를 조사했다. 피검물질은 1 mg/0.1 ml/mouse의 용량을 생리 식염수에 용해해 종양 접종 후 3, 4, 5 일째의 합계 3회, 우측 종양내에 투여했다. 진통작용은, ddy 웅성 마우스(5주)를 이용해 피검물질을 경구투여해 1 h 후에 0.7 %초산 생리 식염 용액을 10 ml/kg, BW 복강내 투여해, 10 분후, 10분 간의 Writhing 수를 측정해, 그 억제 효과를 조사했다. 유산균 제제의 수용성화분을 Sephadex G-50으로 젤 여과해, 당의 정량은 폐놀 황산법, 단백의 정량은 Lowry법으로 실시했다. L/P활성은 Hand들의 방법에 의거해 면역이 미숙한 Swiss-Webstar계 마우스의 한 배에서 태어난 태아(생후6-12시간)를 2군으로 나누어 검체 용액을, 한편에는 대조로서 생리 식염수를 복강내에 주사했다. 주사전, 주사 후 6, 10, 14일에 꼬리 정맥으로부터 채혈해 박층 혈액도말 표본을 작성해, 침자 염색법으로 염색했다. 림프구와 다형핵백혈구를 총계 100 개 수L/P비라고 했다. 효력의 판정은 t-검정에 의해 5% 이하의 위험률로 유의가 있을 경우를 유효라고 했다.

【연구 결과】

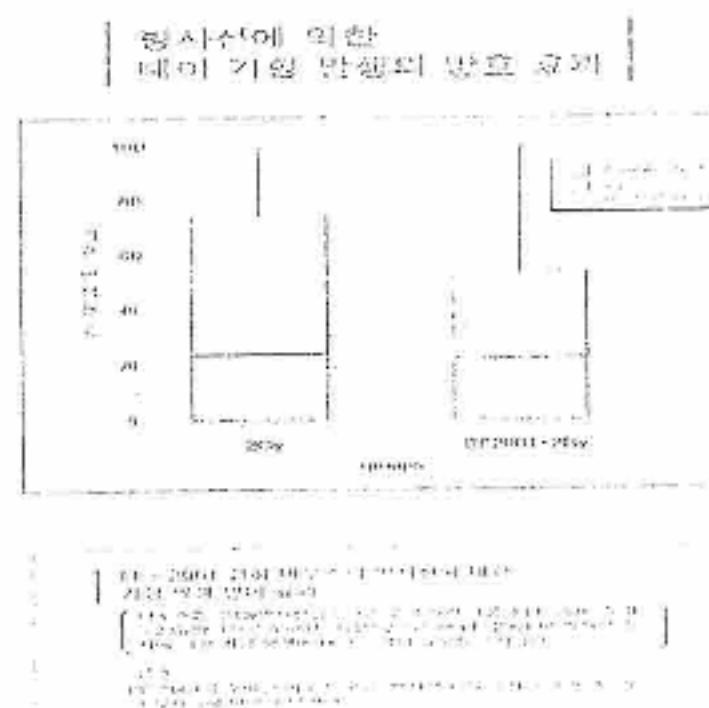
1. 방사선 방호 효과

저항력저하 상태에서의 E. FAECALIS 섭취 마우스의 면역 증강 효과: 마우스에 E. FAECALIS 을 2주간 투여, 그 후, 방사선을 조사해 대조군과의 생존율을 비교했다. E. FAECALIS을 섭취한 마우스 군은, 대조 군에 비해, 생존율이 높았다.



2. 방사선에 의한 태아 기형 발생의 방호 효과

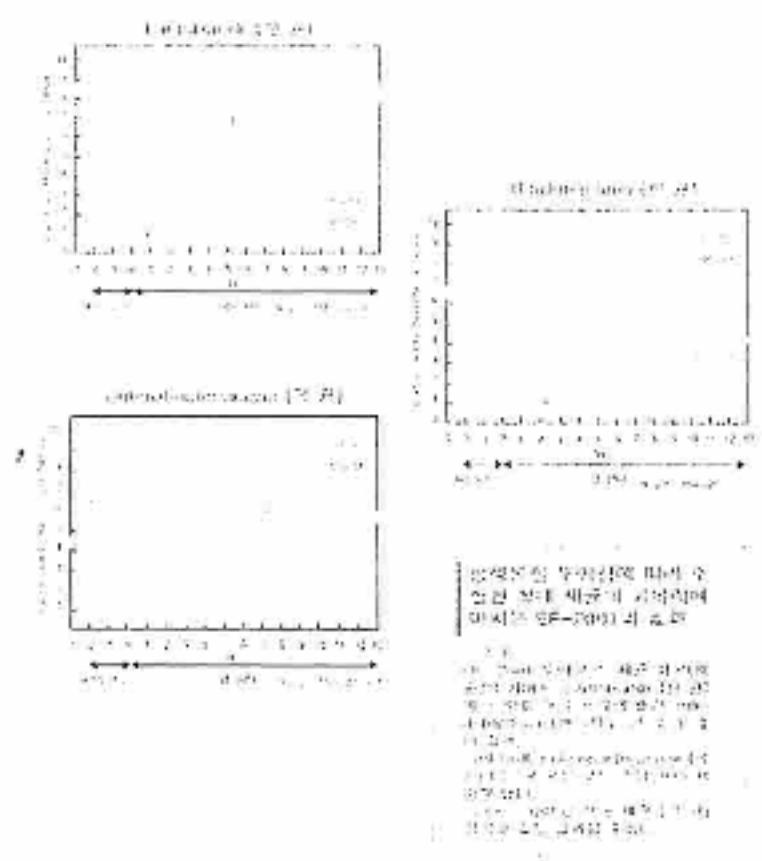
E. FAECALIS 섭취 마우스의 방사선에 대한 기형 발생 방어 효과: 마우스를, 2 Gy방사선을 단독으로 조사한 그룹과 E. FAECALIS 투여 후 2 Gy방사선을 투여한 그룹으로 나누어 E. FAECALIS 이 방사선 조사에 의한 기형 발생에 대한 영향의 유무를 조사했다. E. FAECALIS을 투여한 마우스 군은, 방사선 단독 조사 군에 비해, 기형 발생율이 명확히 낮았다.



3. 장내 세균 개선 효과

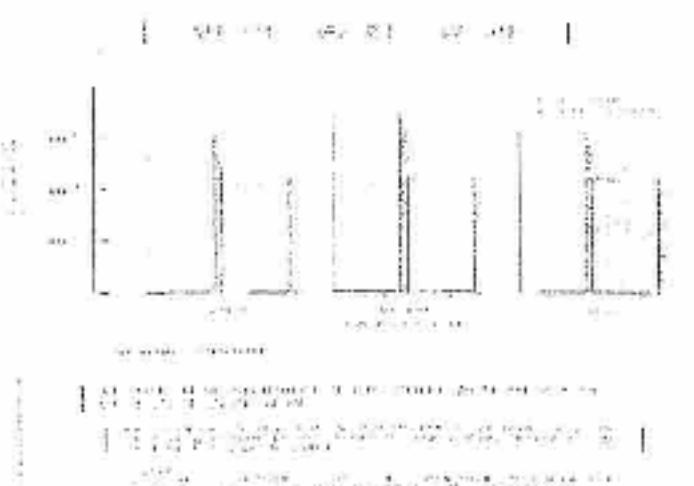
항생물질 투여함에 따라 소실한 장내 세균의 회복력에 미치는 *E. FAECALIS*의 효과: *E. FAECALIS* 투여군의 세균 회복(재 출현) 시에는, *Lactobacilli*(선균)가 조기에, 균수가 많이 출현. *Bifidobacteria*(선균)도 균수가 많이 출현. 그에 대해, *Enterobacteriaceae*(악균) 대장균 균은 낮은 수의 균이 재 출현했다. 즉 *E. FAECALIS*은 장내 세균(선균) 회복에 좋은 결과를 주었다.

| 장내 세균 개선 효과 |



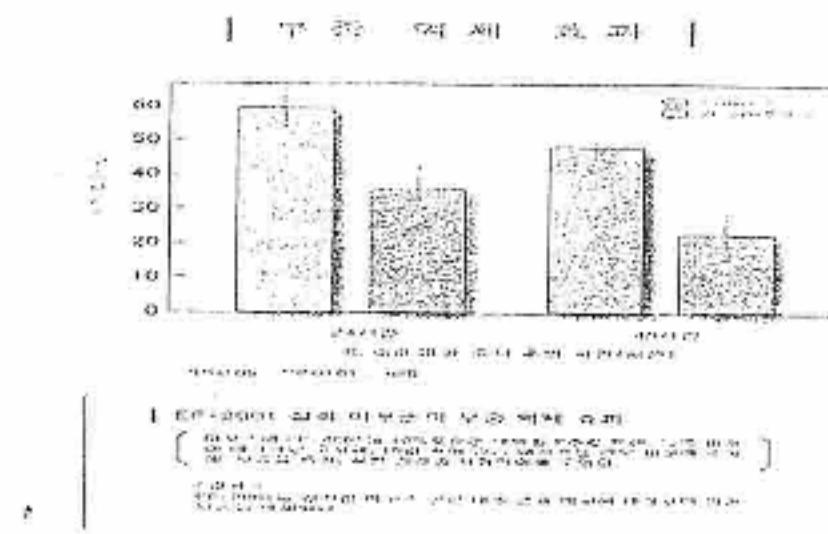
4. 면역 증강 효과

저항력 저하 상태에서의 *E. FAECALIS* 섭취 마우스의 면역 증강 효과: 마우스에 *E. FAECALIS* 을 10%포함한 먹이를 2주간 투여. 그 후, 면역 억제 물질 사이クロ포스포미드(CY)를 투여해, 경시적으로 간장의 대장균 수를 계측 했다. *E. FAECALIS*을 섭취한 마우스 균은, 대조군에 비해, 간장의 대장균 수를 명확히 저하 시켜, 비특이적 면역 증강 효과가 보였다.



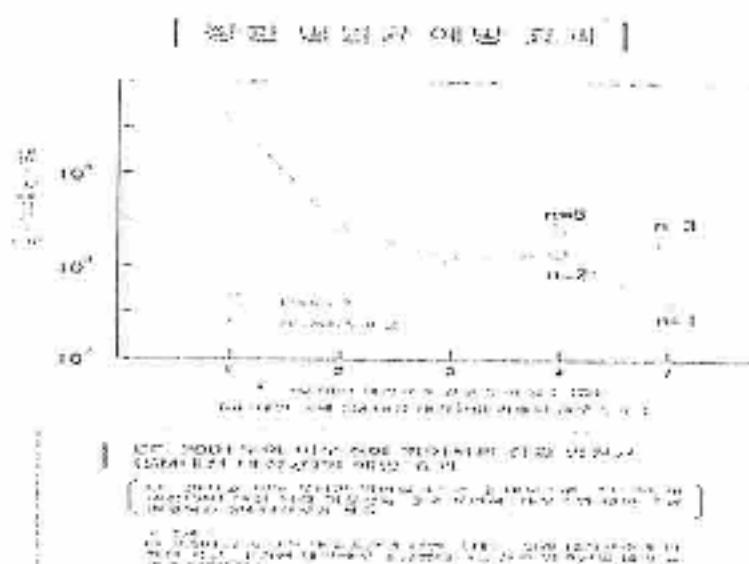
5. 부종 억제 효과(*E. coil* 피하 주사 후의 시간(시간))

E. FAECALIS 섭취 마우스의 부종 억제 효과: 마우스에 FE-2001을 10%포함한 먹이를 2주간 투여. 등쪽 피하에 대장균을 주사해, 10일 후에 같은 대장균을 족부 피하에 주사해, 부종을 측정. 실험 기간 중 시험먹이를 주었다. *E. FAECALIS*을 섭취한 마우스 군은 대조 군과 비교해 대장균에 의한 부종을 억제했다.



6. 장관 병원균 예방 효과

E. FAECALIS 투여 마우스에 있어서의 장관 병원균 (SM내성 대장균)의 예방 효과: *E. FAECALIS*을 10%포함한 먹이를 4주간 준 마우스에, 스트렙토마이신(SM) 내성 외래 대장균을 경구 투여해, 마우스의 대변 중에 배출되는 SM대장균을 계측. *E. FAECALIS*을 투여한 마우스군의 대변 중에는, 외래 대장균수가 명확히 적고, 조기에 대변에서 소실했다. 즉, 장관 병원균의 예방 효과가 나타났다.

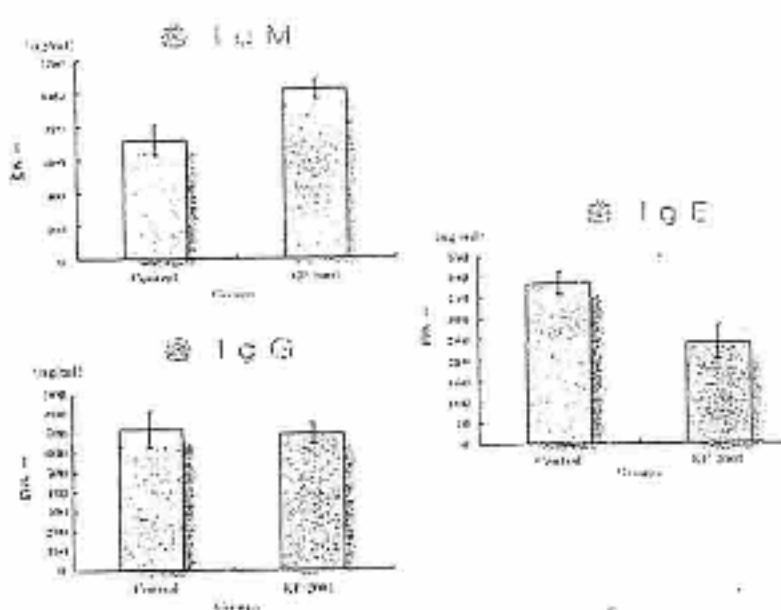


7. 항 알레르기 효과

E. FAECALIS의 총 IgE, IgG, IgM의 측정에 의한 알레르기 반응 억제와 면역 증강 효과: E. FAECALIS 투여 군에서 항체의 생산이 보여, 총 IgM 농도는 대조 군에 비해, 증가했다. 그러나 총 IgG 농도는 약간 저하했다. 이것은 E. FAECALIS의 면역 활력 작용이 마크로파지나 NK세포, T세포 등의 세포 면역을 활성화 시킬 뿐만 아니라, 액성 면역 작용의 촉진을 재촉한다고 생각된다.

E. FAECALIS 투여 군에서는 항체생산이 감소하여 총 IgE 농도는 대조 군에 비해 저하했다. 이것은 E. FAECALIS 투여에 의해 혈중 IL-2 레벨이 상승해, 비장의 사이트 카인, 생산이 Th2형태로부터 Th1형태로 변화했다고 생각된다. 따라서, IgG 및 IgE를 저하시켜, 알레르기 억제 효과를 나타냈다고 생각된다.

항 알레르기 효과



EH - 2001 이 총 IgE, IgG, IgM의 측정에 의한 항 알레르기 반응 억제와 면역 촉진 효과

E. FAECALIS 투여에 의해 혈중 IL-2 레벨이 상승해, 비장의 사이트 카인, 생산이 Th2형태로부터 Th1형태로 변화했다고 생각된다. 따라서, IgG 및 IgE를 저하시켜, 알레르기 억제 효과를 나타냈다고 생각된다.

8. 항 종양 효과

마우스에 있어서의 E. FAECALIS 투여에 따른 Meth-A의 fibrosarcoma 후의 항 종양 작용: 종양은 이식 후 약 13 일째부터 대조 군과 비교해 E. FAECALIS 투여 군에서는 억제 경향이 보이며 15 일째에는 종양의 사이즈가 명확히 줄었다. 마우스에 있어서의 E. FAECALIS의 Sarcoma 180에 대한 항 종양 작용: 대조 군에 비해 E. FAECALIS 투여 군에서는 종양의 크기(mm^3)는 투여 2 번째 (종양 이식 후 4 일째)로부터 측정 기간에 있어서 명확히 축소하고, 또한 종양에 대한 현저한 증식 억제 효과가 밝혀졌다.

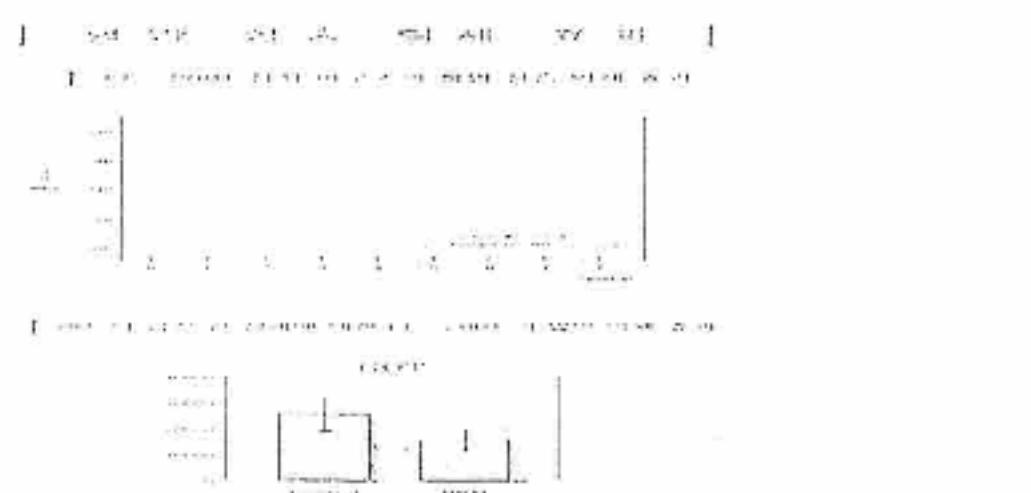


9. 마우스에 있어서의 E. FAECALIS의 말초혈중의 임파구에 대한 다형핵 백혈구 비 증가 (L/P활성) 작용:

대조군에서는 완만한 증가를 나타낸 것에 대해, E. FAECALIS 투여군에서는 급격한 증가를 나타냈으며, 대조군과 비교해, 어느 시점에서도 L/P는 유의차 ($P < 0.05$)가 높았으며, 특히 14일째는 유의차가 현저했다.

10. 혈압 상승 억제 효과

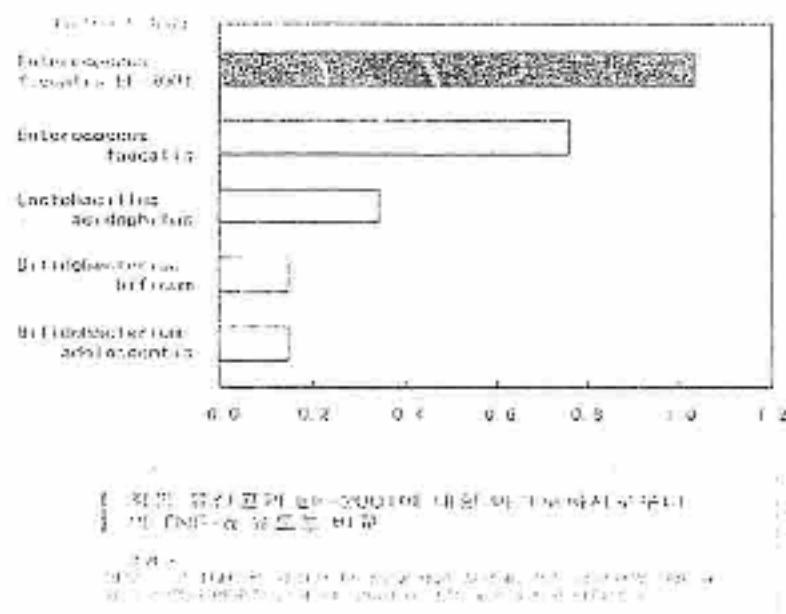
E. FAECALIS 섭취 마우스의 혈압 상승 억제 효과: 래트의 급성 간 장해에 대한 E. FAECALIS의 발병 억제 효과가 보였다.



11. 균종별 면역활성에 대한 비교

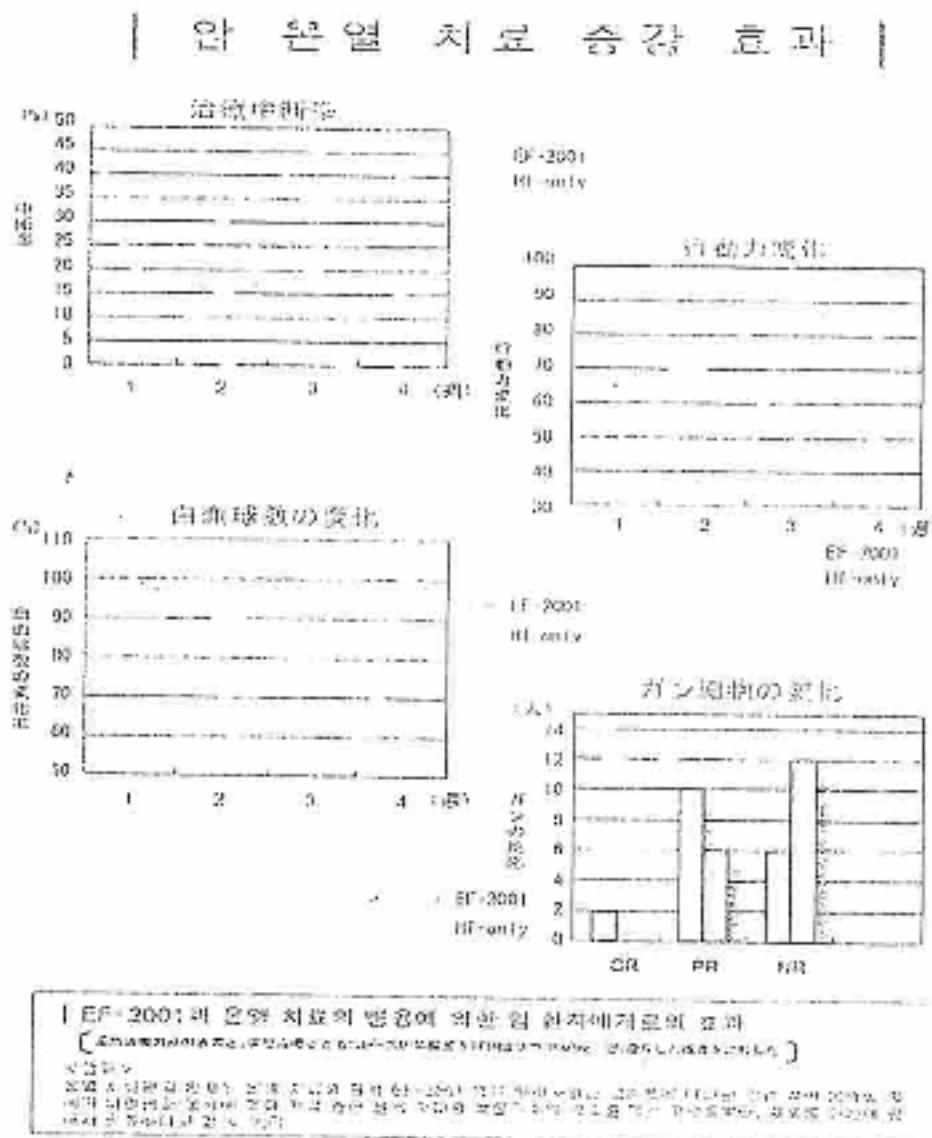
각종 유산균과 E. FAECALIS에 대한 마크로파지로부터의 TNF- α 유도능 비교: 마우스 구강내에서 채취한 마크로파지를 사용해, 각종 유산균의 TNF- α 유도 능력을 비교한 결과, E. FAECALIS이 가장 높은 숫자를 나타냈다.

균종별 면역 활성에 대한 비교



12. 암 온열 치료 증강 효과

E. FAECALIS과 온열 치료의 병용에 의한 암 환자에게로의 효과: 온열 치료만의 환자와 온열 치료와 함께 E. FAECALIS 병용 투여자와는 그레프에 나타낸 것과 같이 분명한 차이가 나타난다. 특히 치료 중단율의 저하와 백혈구수의 감소를 막는 것으로부터, 치료를 하는데 있어서 유효하다고 할 수 있다.



【고찰】

음식은 흡수되기 쉬운 저분자까지 소화 분해되어 장관 표피 세포로부터 흡수된다. 이것에 대해, 살균 유산균은 소화 분해되지 않고, 세포 그대로 장까지 도달한다. 장에는 파이엘 판라고 하는 큰 분자 물질을 이물질로 인식해, 그대로 섭취하는 특별한 기관이 존재한다. 미생물 등은 그 생사에 관계없이 파이엘 판에 먹여진다. 생체는 파이 엘 판에서 인식한 이물에 대해서 필요에 따라서 항체를 생산하거나 백혈구를 활성화시키는 등 방어 기구를 발휘한다 7-8).

본 연구에서는 이하의 결과를 냈다. BALB/c마우스를 이용하여 Meth-A fibrosarcoma를 접종한 결과, 종양 억제 효과가 있었다. 또한 유산균(EF-2001)을 ICR마우스에 Sarcoma-180을 1.7 ×

10^6 cells 이식해, 이식 후 3,4,5 일째에 EFS(1 mg/mouse), EFI(1 mg/mouse), Zymosan(1 mg/mouse)을, 대조군에는 생리 식염수를 투여했다. 종양 중량에 있어서 통계학적인 유의차가 있었다. 또한 BALB/c마우스에 Meth-A fibrosarcoma를 1×10^6 cells 이식 후 7 일째부터 종양 증식 저하의 경시적 변화가 있었다. 200 µg/mouse, i.p.로 L/P활성이 유의($P<0.05$)했다. 경시적 변화로부터 EFS 투여군은 이식 후 6 일째로부터, 대조 실험의 Zymosan 투여군은 이식 후 8 일째에서 26 일째까지 각각 모두 종양 증식을 억제했다. 또, 적출 종양 중량도 EFS 및 Zymosan 투여군 모두 의의가 있었다. EFI 투여군에서는 유의한 종양 증식 억제 효과는 인정되지 않았다. 수용성 분핵(EFS)에는 사이트 카인, 모노 카인의 유도, NK세포의 활성 증강 등이 집중한 때문이라고 추측된다 7). SRBC에 대한 적혈구 응집 반응을 검토한 결과, 항체 생산능의 증강이 인정되었다. 유산균은 식품의 발효소재로서 넓게 이용되어 왔지만, 어느종의 유산균은 사람의 장관내에 생식 해, 생체에 유용한 효과를 미치고 있다고 해, 그 생체 방어능이 밝혀졌다 8). 그 기능작용으로서 정장 작용, 비 상재성의 병원성 세균 증식의 억제, 전신성 면역의 활력 작용등, 생체에 유용한 효과를 미쳐, 장내 세균으로서의 유산균의 존재는 중요하다고 사료된다 8). 본 연구결과, 면역 증강 작용이나 항암작용이 밝혀졌다. 그 이유로서 유산 구균(Enterococcus Faecalis 2001)인 가열사균체(균체 성분)의 투여는, 마우스의 호중구나 마크로파지를 활성화하거나 TNF(Tumor Necrosis Factor)- α 의 생산을 증강하거나 항종양 작용을 나타내는 등의 면역증강효과가 이미 보고되고 있다 9-10). 또, 유산 구균은 BRM(Biological Response Modifier) 활성 및 생체 기능을 증강해, 엄밀한 종 특이성이 없다고 보고되어 있다 11). 또, Pampfer와 Stereffer들은, 방사선 조사에 대한 면역 저하에 의해, 여러 영향을 보고했다 12). 따라서, 본 연구에서는, 유산 구균(EF2001)에 의한 여러가지 효과를 검토했다. 방사선에 대한 면역 저하에 의한 회복 작용의 메카니즘을 해명하기 위해서, L/P활성 등을 마우스의 혈구 세포를 관찰해, 검토를 했다. 그 결과, 유산 구균(EF2001)에 의해 면역 활성에 의해, 생체 유용성이 있다고 생각된다 13-16).

유산 구균(EF2001)이 어떤 생체내 작용으로 유효한지 검토하면자면, 유산 구균 투여에 의해, 통계학적으로 유의차가 있었던 유산 구균(EF2001)에 포함되는 BRM 17)에 의해, 백혈구의 기능 증진 18), 종양 세포의 증식 억제 19) 등의 면역 작용의 증강이 생각되어 체중의 증가로써 대사가 활성화되었다고 생각된다.

건강한 상태를 「항상성이 정상적으로 유지되어 있다」라고 한다. 항상성의 유지가 정상적이란 것은, 면역계, 신경계, 내분비계의 체내 톱니바퀴가 정상적으로 서로 맞물리고 있는 것을 나타내고 있다 20). 항상성의 체내 톱니바퀴를 정상적으로 들리는 균원은, 면역계의 톱니바퀴이다. 면역계의 톱니바퀴가 정상적으로 돌고 있는 것은 체내 톱니바퀴의 움직임을 정상적이라 볼수있다. 그 원동력이 백혈구이다. 영양 성분은 BRM이다. 백혈구의 힘이 약해지면, 면역계의 톱니바퀴의 움직임에 마이너스 영향이 생겨 항상성 유지력은 저하한다 21-23).

향후, 생체에 있어서의 유산 구균(EF2001)에 대한 메카니즘의 새로운 검토와 해석이 필요하다.

또, 이번 실험에 의해 유산 구균(EF2001)의 투여량(농도)에 의한 변화도 실시하여 보다 더 정밀실험의 향상이 필요하다. 이상으로부터, 본 연구에서 사용한 유산 구균(EF2001)은, 면역 작용의 증강이 시사되었다. 또한 차후, 유산 구균(EF2001)의 생체에 미치는 메카니즘의 새로운 해명이 요구된다.

참고문헌

- Q. Xiang, S. V. Kavindra, X. Yi, W. M. George and M. E. Barbara, Effect of Disruption of a Gene Encoding an Autolysin of Enterococcus faecalis OG1RF, *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 1998, 42(1), 2883-2888.
- 小川 正俊、宇治 達哉、宮崎 修一、五島 瑛智子, *Enterococcus faecalis* の実験的敗血症における病原因子に関する基礎的検討, *感染症雑誌*, 1988, 62(3), 217-225.
- Takashi Hasegawa, Hitomi Kanasugi, Masakazu Hidaka, Yakari Ogura, Takateru Inomata, Tetsuro Yamamoto, Shigeru Abe, and Hideyo Yamaguchi, Evaluation of clinical usefulness on the oral BRM therapy using heat-killed *Enterococcus faecalis* FK-23 preparation, *J. Anim. Res. Found.*, 1994, 3(1), 11-20.
- Gill HS, Shu Q, Lin H, Rutherford KJ, Cross ML, Protection against translocating *Salmonella typhimurium* infection in mice by feeding the immuno-enhancing probiotic *Lactobacillus rhamnosus* strain HN001, *Med. Microbiol. Immunol.* 2001, 190(3): 97-104.
- Shu Q, Gill HS. Immune protection mediated by the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (DR20) against *Escherichia coli* O157:H7 infection in mice, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2002, 34(1): 59-64.
- 大橋 一智、里中 勝人、山本 哲郎、山崎 正利、木村 貞夫、安部 茂、山 口 *Enterococcus faecalis* FK-23 株加熱死菌体のマウス同系腫瘍に対する抗腫瘍効果, *YAKUGAKU ZASSHI*, 1992, 113, 396-399.
- Shu Q, Lin H, Rutherford KJ, Fenwick SG, Prasad J, Gopal PK, Gill HS. Dietary *Bifidobacterium lactis* (HN019) enhances resistance to oral *Salmonella typhimurium* infection in mice, *Microbiol. Immunol.* 2000, 44(4):213-22.
- Gill HS, Rutherford KJ. Immune enhancement conferred by oral delivery of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 in different milk-based substrates, *J. Dairy Res.* 2001, 68(4):611-616.

9. 柳沢 昊永、他,乳酸產生菌 *Enterococcus faecalis* EF-2001 加熱死菌体の血清学的確認法, 医学と生物学, 1999, 139, 39-44.
10. Takashi Hasegawa, Hitomi Kanasugi, Masakazu Hidaka, Yakari Ogura, Takateru Inomata, Tetsuro Yamamoto, Shigeru Abe, and Hideyo Yamaguchi, Evaluation of clinical usefulness on the oral BRM therapy using heat-killed *Enterococcus faecalis* FK-23 preparation, J. Anim. Res. Found. 1994, 3(1), 11-20.
11. Gill HS, Rutherford KJ. Viability and dose-response studies on the effects of the immunoenhancing lactic acid bacterium *Lactobacillus rhamnosus* in mice. Br. J. Nutr. 2001, 86(2):285-189.
12. S.Pampfer and C.Streffer, Prenatal death and malformations after irradiation of mouse zygotes with neutron or X-rays, Teratology, 1988, 37, 599-607.
13. Zhou JS, Shu Q, Rutherford KJ, Prasad J, Gopal PK, Gill HS. Acute oral toxicity and bacterial translocation studies on potentially probiotic strains of lactic acid bacteria. Food Chem. Toxicol.. 2000, 38(2-3):153-161.
14. Gill HS, Rutherford KJ, Prasad J, Gopal PK. Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019). Br. J. Nutr. 2000, 83(2):167-176.
15. Cross ML, Mortensen RR, Kudsk J, Gill HS. Dietary intake of *Lactobacillus rhamnosus* HNOO1 enhances production of both Th1 and Th2 cytokines in antigen-primed mice. Med. Microbiol. Immunol. 2002, 191(1):49-53.
16. Plant J, Glynn AA, Wilson BM. Protective effects of a supernatant factor from *Salmonella typhimurium* on *Salmonella typhimurium* infection of inbred mice. Infect. Immun. 1978, 22(1):125-131.
17. Perdigon G, Nader de Macias ME, Alvarez S, Oliver G, Pesce de Ruiz Holgado AA. Prevention of gastrointestinal infection using immunobiological methods with milk fermented with *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus*. J. Dairy Res. 1990, 57(2):255-264.
18. Shu Q, Gill HS. A dietary probiotic (*Bifidobacterium lactis* HN019) reduces the severity of *Escherichia coli* O157:H7 infection in mice. Med. Microbiol. Immunol. 2001, 189(3):147-152.

19. De Simone C, Tzantzoglou S, Baldinelli L, Di Fabio S, Bianchi-Salvadori B, Jirillo E, Vesely R. Enhancement of host resistance against *Salmonella typhimurium* infection by a diet supplemented with yogurt. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 1988, 10(3):399-415.
20. Zhou JS, Shu Q, Rutherford KJ, Prasad J, Birtles MJ, Gopal PK, Gill HS. Safety assessment of potential probiotic lactic acid bacterial strains *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lb. acidophilus* HN017, and *Bifidobacterium lactis* HN019 in BALB/c mice. *Int. J. Food Microbiol.* 2000, 25:56(1):87-96.
21. Ramarathinam L, Shaban RA, Niesel DW, Klimpel GR. Interferon gamma (IFN-gamma) production by gut-associated lymphoid tissue and spleen following oral *Salmonella typhimurium* challenge. *Microb. Pathog.* 1991, 11(5):347-356.
22. Mittrucker HW, Raupach B, Kohler A, Kaufmann SH. Cutting edge: role of B lymphocytes in protective immunity against *Salmonella typhimurium* infection. *J. Immunol.* 2000, 15:164(4):1648-1652.
23. Mastroeni P, Simmons C, Fowler R, Hormaeche CE, Dougan G. Ig γ -6(-/-) (B-cell-deficient) mice fail to mount solid acquired resistance to oral challenge with virulent *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* and show impaired Th1 T-cell responses to *Salmonella* antigens. *Infect. Immun.* 2000, 68(1):46-53.