

경도 및 중등도 활동성 궤양성 대장염 환자에서의 VSL#3의 효능

이지현, 문 규¹, 권혁진, 정우진, 서평주, 백태윤, 이주형², 김현식

서울송도병원 소화기내시경센터¹, 하남송도병원 소화기센터¹, 서울송도병원 세포연구소²

Effect of a Probiotic Preparation (VSL#3) in Patients with Mild to Moderate Ulcerative Colitis

Ji Hyun Lee, Gyoo Moon¹, Hyeok Jin Kwon, Woo Jin Jung, Pyoung Ju Seo, Tai Yoon Baec, Ju Hyeong Lee² and Hyun Shig Kim

Digestive Endoscopic Center, Seoul Song Do Colorectal Hospital, Seoul, Department of Gastroenterology, Hanam Song Do Colorectal Hospital¹, Hanam, Songdo Biocell Research Institute², Seoul, Korea

Background/Aims: Ulcerative colitis (UC) is a chronic disease that characteristically has a relapsing and remitting course. Probiotics might possibly induce remission in the treatment of active UC. Aims of our study were to assess the efficacy of VSL#3 on clinical response and colonic tissue cytokine concentration changes in patients with active UC.

Methods: Twenty-four eligible patients with mild to moderate UC received open-label VSL#3 4 sachets daily in 2 divided doses for 8 weeks. The disease activity pre- and post-VSL#3 therapy was assessed by ulcerative colitis disease activity score and colonic tissue cytokine profiling done at baseline and at week 8.

Results: Twenty-four patients (mean age, 43.7 years; range, 20-70 years; male/female, 15/9) were enrolled and 2 patients did not have the final endoscopic assessment. A total of 22 patients were analyzed. Intent to treat analysis demonstrated remission in 45.8% of subjects (n=11); partial response in 20.8% (n=5); no change or worse in 25.0% (n=6) of subjects. The mean ulcerative colitis disease activity index (UCDAI) scores decreased from 7.09 ± 1.81 to 1.45 ± 1.29 in patients with a remission ($p < 0.001$). The mean endoscopic scores had also significantly decreased from 1.91 ± 0.54 to 0.63 ± 0.50 in patients with a remission ($p < 0.001$). The concentrations of colonic cytokines did not change significantly during treatment in patients with a remission.

Conclusions: Our study demonstrated that VSL#3 is effective in achieving clinical responses and remissions in patients with mild-to moderately active UC, further supporting the potential role in UC therapy. (Korean J Gastroenterol 2012;60:94-101)

Key Words: Probiotics; Ulcerative colitis; Cytokines

서론

궤양성 대장염은 면역 체계의 이상반응으로 인한 만성 염증성 질환이다. 장내 세균은 크론병이나 궤양성 대장염 같은 염증성 장질환의 중요한 선행인자로 알려져 있다. 장내 세균은 장점막층에 존재하는 면역세포와 항상 신호를 교신하면서 체액매개 또는 세포매개 면역반응을 유지하는데 중요한 역할을 담당하고 있다.¹⁻³ 또한 장내 세균들이 유전적으로 감수성

이 있는 개체에서는 만성염증을 유발할 수 있다는 사실은 여러 동물실험에서 입증되고 있다.^{4,5}

프로바이오틱스란 적절한 양을 섭취하였을 때 체내에 들어가서 건강에 좋은 효과를 주는, 병원성이 없거나 매우 낮은 농도로 살아있는 세균을 말한다.⁶ 프로바이오틱스의 장점은 부작용이 거의 없다는 것이다.^{7,8} 지속적인 치료가 필요한 상당수의 환자들이 메살라민, 면역조절제, 생물학적 제제의 부작용을 경험하고 있으며 약 20-30%의 환자에서는 기존의 약

Received February 9, 2012. Revised May 14, 2012. Accepted May 14, 2012.

© 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.

교신저자: 문 규, 465-803, 하남시 덕풍2동 362번지, 하남송도병원 소화기센터

Correspondence to: Gyoo Moon, Department of Gastroenterology, Hanam Song Do Colorectal Hospital, 362 Deokpung 2-dong, Hanam 465-803, Korea. Tel: +82-31-793-2882, Fax: +82-31-795-0933, E-mail: chelsia3@empal.com

Financial support: This research was supported by the Korea Institute of Medicine. Conflict of interest: None.

제들이 관해를 유도하지 못했다.⁹ 부작용이 적고 보다 자연적인 치료제인 프로바이오틱스가 효과가 있다면 기존의 치료제에 부작용이 있는 환자들에게 사용할 수 있을 것이다.

경도 및 중등도의 궤양성 대장염 환자에서 관해를 유도하는 프로바이오틱스의 효능에 관한 연구들은 보고된 바가 있다. 활동성 궤양성 대장염 환자 116명을 대상으로 한 연구에서는 스테로이드 경구 복용과 관장을 허용한 상태에서 *Escherichia coli* (*E. coli*) Nissle 1917균과 메살라민균의 관해 유도율이 각각 68%와 75%로, 프로바이오틱스인 *E. coli* Nissle 1917이 효과가 있음을 보고하였다.¹⁰ 또 다른 소규모 연구에서는 *Bifidobacterium* 발효 우유를 복용한 그룹이 위약 그룹보다 의미있는 임상증상의 호전을 보였다.¹¹ 또한 메살라민이나 스테로이드에 반응하지 않은 경도 및 중등도 활동성 궤양성 대장염 환자를 대상으로 한 연구에서는 6주간 VSL#3를 사용한 경우에 관해율을 포함한 반응률이 94%에 달했다는 보고도 있었다.¹²

그러나 이러한 연구는 모두 서양에서 이루어진 것으로 한국인의 활동성 궤양성 대장염 환자에서 프로바이오틱스가 어떤 효과를 보이는지에 대한 임상적인 연구는 아직 없었다. 이에 이번 연구에서는 기존의 치료에도 불구하고 악화된 경도와 중등도의 활동성 궤양성 대장염 환자에 있어서 8주간의 VSL#3 투여 전후의 궤양성 대장염 질병활동도(ulcerative colitis disease activity index, UCDAI) 점수로 분류한 관해, 반응, 무반응군의 비율과 각 군에서의 내시경적 병변의 호전 정도를 알아보고자 하였다.

또한 VSL#3 투여 전후에 내시경 검사를 통해 채취한 대장 조직에서의 tumor necrosis factor (TNF)- α , interferon (IFN)- γ , interleukin (IL)-10, IL-12 농도와 혈액검사인 hemoglobin, hematocrit, erythrocyte sedimentation rate (ESR), CRP, albumin의 농도 변화를 각 군 별로 살펴보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

2011년 1월부터 11월까지 서울송도병원에 내원한 궤양성 대장염 환자 중에서 18세부터 70세 이하이며 메살라민을 포함한 기존의 치료를 적어도 2주 이상 유지하였음에도 증상이 악화된 경우 중 피험자 동의서에 서면 동의한 24명을 대상으로 하였다.

궤양성 대장염은 대한소화기학회의 진단 가이드라인에 따라 병력과 임상 양상, 전형적인 내시경검사 및 조직검사 소견을 종합하여 진단하였다.¹³ 대상 환자는 병변 부위가 직장에만 국한된 경우, UCDAI 점수가 10 이상이거나 2 이하인 경우, 대장암, 간암, 만성 신부전, 울혈성 심부전, 갑상선 질환 등

동반 질환이 있는 경우, 임신부, 수유부는 연구 대상에서 제외하였다. 과거 한 달 이내에 10 mg 이상의 스테로이드를 복용하였거나 항생제를 투여한 경우도 연구 대상에서 제외하였다. 인플릭시맵을 투여한 환자도 이번 연구에서 제외하였다.

경구 메살라민, 메살라민 관장액, 국소 스테로이드 관장액은 2주 이상 사용하고 있었다면 계속 투여하도록 하였다. Azathioprine이나 6-mercaptopurine을 8주 이상 용량의 변동 없이 투여하고 있던 경우에도 지속적으로 투여하도록 하였다. 그 외 다른 궤양성 대장염 관련 치료제는 복용하지 않도록 하였다.

이번 연구는 서울송도병원 윤리위원회 윤리규정에 따라서 임상시험승인을 얻은 후 진행하였다.

2. 프로바이오틱스 VSL#3

VSL#3 (4.4 g, Danisco, Madison, WI, USA)는 한 포에 적어도 4,500억개(4.5×10^{11} 균수/1포)의 8종의 냉동건조된 살아있는 균주로 이루어진 대표적인 프로바이오틱스이다. 총 8종의 생균은 4종의 *Lactobacillus* (*L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*), 3종의 *Bifidobacterium* (*B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*)과 1종의 *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*로 이루어졌다.¹⁴ 기존의 연구에서는 하루 용량 1-4포 정도로 대부분 연구가 이루어졌고 하루 8포(3.6×10^{12} 균수/일)를 복용한 연구가 제일 많은 용량을 복용하도록 한 연구였다.¹⁴ 이번 연구에서는 하루 4포를 두 번에 나누어서 8주간 복용하도록 하였다.

3. 연구 방법

첫 방문에서 환자들의 특성과 병력, 현재 투약력 등을 수집하였다. 연구 참여자들은 VSL#3를 하루 2포씩 2회, 총 4포(1.8×10^{12} 균수/일)를 찬물에 타서 총 8주간 복용하도록 하였다. 환자들은 매일 VSL#3를 복용한 후에 먹은 횟수와 부작용을 기록하였다. 4주 후 방문에서 90% 이상 복용을 완료하고 특별한 부작용이 없는 경우 다시 4주간 복용할 분량의 VSL#3를 배송하도록 하였다. 첫 방문 때 환자들에게 대장내시경을 시행하였고 8주 후에 90% 이상 VSL#3를 복용하였을 때 구불창자내시경검사를 시행하였다. 처음 대장내시경검사서 가장 염증이 심한 부위에서 조직을 채취하였으며 8주 후 시행한 구불창자내시경검사에서는 염증이 남아있는 부위에서 조직을 채취하였다. 구불창자내시경검사서 염증이 육안적으로 호전되어 병변이 없을 경우에는 구불창자와 직장에서 조직을 나누어서 채취하였다. 기본 혈액검사는 첫 방문 때 시행하였으며 4주 후, 8주 후 방문 때도 추적 혈액검사를 시행하였다. 혈액검사는 complete blood count (CBC), ESR, CRP,

creatinine, alkaline phosphatase, albumin을 포함하였다. 각각의 방문에서 배변횟수, 혈변의 정도, 전반적인 상태의 평가, 장관 외 증상에 대해 정보를 수집하였다.

4. 치료 반응의 평가

VSL#3의 치료 반응의 평가는 8주간 복용한 후에 1회에 걸쳐 이루어졌다. 임상적인 관해는 UCDAI 점수가 2점 이하 일 경우로 정의하였으며 부분반응은 처음보다 25% 이상 호전되었을 경우로 정의하였다. 무반응은 UCDAI 점수의 변화가 없거나 악화되었을 때, 또는 스테로이드, 면역조절제, 생물학적 제제, 수술의 추가적인 치료가 필요할 때로 정의하였다. UCDAI 점수 중 내시경 항목 점수에 기반하여 경도, 중등도, 중증도(각각 1, 2, 3점)로 내시경 점수를 분류하였다(Table 1).¹⁵

5. 대장조직 사이토카인 측정

채취한 조직은 8조각 이상이였으며 사이토카인 측정을 위해 15 mL의 phosphate-buffered saline (PBS)과 antibiotic-antimycotic (A.A.; Invitrogen Gibco, Carlsbad, CA, USA)가 있는 원추형 튜브에 넣었다. 세포가 세균에 의해 오염되거나 세균이 증식하는 것을 억제하기 위해서 즉시 실험을 진행하였다. 조직을 멸균 거즈에 올리고 멸균 핀셋을 이용하여 점막 부위를 제거한 후 15 mL 원추형 튜브에 조직을 모두 넣고, PBS와 A.A. 10 mL를 넣고 상하로 세척을 세 차례에 걸쳐 시행하였다. PBS와 A.A. 10 mL에 최종 ethylenediamine-tetraacetic acid (EDTA)가 1 mM이 되게 만든 후에 CO₂ in-

cubator (Therma, South Paterson, NJ, USA)에서 37°C로 40분간 배양하였다. 조직만 다시 채취하여 PBS와 A.A.가 투명해질 때까지 3-5번 세척하였다. 멸균 거즈에 조직을 놓고 최대한 물기를 제거하여 1.5 mL 튜브에 넣고 조직의 무게를 측정하였고 좋은 조직만을 선별하여 24 well plate에 RPMI1640 배지 (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA), A.A. 10%, fetal bovine serum 1 mL, phytohemagglutinin에 조직 20 mg을 24시간 배양 후에 상층액만 1.5 mL tube에 담아 20°C에 보관했다. Becton Dickinson (BD, Franklin Lakes, NJ, USA)의 ELISA법으로 Tecan (SunriseTM; Männedorf, Zürich, Switzerland)를 이용하여 TNF- α , IFN- γ , IL-10, IL-12의 농도를 측정하였다.

6. 통계 분석

통계 분석은 SPSS ver. 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였다. 연속변수는 평균(중간) 값과 표준편차(범위)로, 빈도 변수는 퍼센트의 형태로 나타내었다. VSL#3 투여 전후의 UCDAI 점수의 비교는 paired t-test를 이용하였다. VSL#3 투여 전후의 TNF- α , IFN- γ , IL-12, IL-10 농도의 비교는 비모수검정인 Wilcoxon signed rank sum test/paired t-test를 이용하였다. 각 군의 비교는 Kruskal-Wallis test를 이용하였다. p값 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. 대상 환자의 특성

24명의 환자를 대상으로 연구가 진행되었으며 한 명의 환자는 특별한 이유 없이 복용하지 않았고 다른 한 명의 환자는

Table 1. Ulcerative Colitis Disease Activity Index¹⁵

Variables	Score
Stool frequency	
Normal	0
1-2 stools/day > normal	1
3-4 stools/day > normal	2
> 4 stools/day > normal	3
Rectal bleeding	
None	0
Streaks of blood	1
Obvious blood	2
Mostly blood	3
Mucosal appearance	
Normal	0
Mild friability	1
Moderate friability	2
Exudation, spontaneous bleeding	3
Physician's rating of disease activity	
Normal	0
Mild	1
Moderate	2
Severe	3

Table 2. Patient Demographic and Baseline Characteristics

Characteristics	VSL#3-treated group
Gender (Male/female)	15 (62.5)/9 (37.5)
Age (yr)	43.7±14.4
Male	44.2±15.2
Female	42.8±13.9
Duration of symptoms at onset (months)	54.7±54.6
Disease extent	
Rectosigmoiditis	11 (45.8)
Left-sided colitis	6 (25.0)
Pancolitis	7 (29.2)
Concomitant medication	
Oral 5-aminosalicylic acid	22 (91.7)
Azathioprine or 6-mercaptoprine	3 (12.5)
Melsalamine suppository or enema	16 (66.7)
Steroid enema	2 (8.4)

Values are presented as mean±SD or n (%).

추적 검사에 참여하지 않아 2명의 환자는 결과에 포함시키지 않았다. 한 명의 환자는 VSL#3 복용 시 복부 팽만감으로 인해 투약을 중단하였으나 추적검사를 완료하여 무반응군에 포함시켜 분석하였다.

연구에 참여한 24명 환자의 평균 나이는 43.7 ± 14.4 세였으며 남자 환자가 15명으로 전체 환자의 62.5%를 차지하였다. 증상이 지속된 평균 기간은 54.7 ± 54.6 개월이었다. 직장과 구불창자를 침범한 환자는 11명(45.8%)이었으며 좌측대장염을 가진 환자는 6명(25.0%)이었다. 광범위대장염을 가진 환자는 7명(29.2%)이었다. 병용 투여 약물은 전체 환자의 22명(91.7%)이 5-aminosalicylic acid를 경구로 복용하고 있었으며 aza-

thioprine이나 6-mercaptoprine를 복용하고 있는 환자는 3명(12.5%)이었다(Table 2).

2. 치료효과

연구에 참여한 24명의 환자 중 22명의 환자가 VSL#3를 복용하였으며 연구에 필요한 검사를 완료하였다. VSL#3 투여 후에 관해를 보인 환자는 24명의 환자 중에 11명으로 전체 환자의 45.8%였으며 부분반응을 보인 환자는 5명(20.8%)이었다. 무반응이나 증상 악화를 보인 환자는 6명(25.0%)이었다. 관해군과 부분반응군, 무반응군에서의 투약 전 UCDAI 점수와 내시경 점수는 통계학적으로 의미있는 차이가 없었다(Table 3).

Table 3. Clinical and Laboratory Findings before Administration of VSL#3 for Each Group

Patient characteristics	Remission (n=11)	Partial response (n=5)	No response (n=8)	p-value	95% confidence interval	
					Lower	Upper
Age (yr)	46 (20-70)	42.2 (27-63)	45.5 (21-62)	0.866	37.5	50.3
Duration of disease (mo)	24 (2-120)	36 (12-180)	56 (12-168)	0.074	31.0	82.3
Endoscopic grade	2 (1-3)	2 (1-3)	2 (1-3)	0.861	1.66	2.15
UCDAI score	7 (4-9)	5 (3-9)	5.5 (4-8)	0.288	5.52	7.33
Hemoglobin (g/dL)	14.8 (8.6-16.1)	14.2 (11.4-16.5)	13.2 (11.6-15.4)	0.760	13.1	14.8
Hematocrit (%)	42.7 (25.5-45.5)	40.7 (31.4-44.8)	38.1 (34.7-43.7)	0.266	13.2	14.8
ESR (mm/hour)	8 (1-45)	21 (7-83)	15 (1-28)	0.435	9.06	25.80
CRP (mg/dL)	0.09 (0.03-6.37)	0.04 (0.02-0.16)	0.30 (0.04-0.91)	0.094	-0.04	1.20
Albumin (g/dL)	4.6 (4.0-4.9)	4.5 (4.1-4.6)	4.5 (3.7-4.7)	0.729	4.27	4.27
TNF- α (pg/mL)	42.0 (7.8-575.6)	40.6 (15.3-184.7)	97.8 (7.8-656.5)	0.966	26.7	189.4
IFN- γ (pg/mL)	176.0 (8.1-1228.9)	440.8 (248.8-658.2)	627.2 (37.0-2069.1)	0.554	260.4	733.8
IL-12 (pg/mL)	43.3 (7.8-185.0)	67.6 (46.3-159.7)	72.3 (7.8-384.4)	0.111	42.8	120.1
IL-10 (pg/mL)	15.6 (7.8-283.6)	11.8 (7.8-240.8)	39.3 (15.6-325.5)	0.306	35.2	131.9

Values are presented as median (range).

UCDAI, ulcerative colitis disease activity index; ESR, erythrocyte sedimentation rate; TNF- α , tumor necrosis factor- α ; IFN- γ , interferon- γ ; IL-12, interleukin-12; IL-10, interleukin-10.

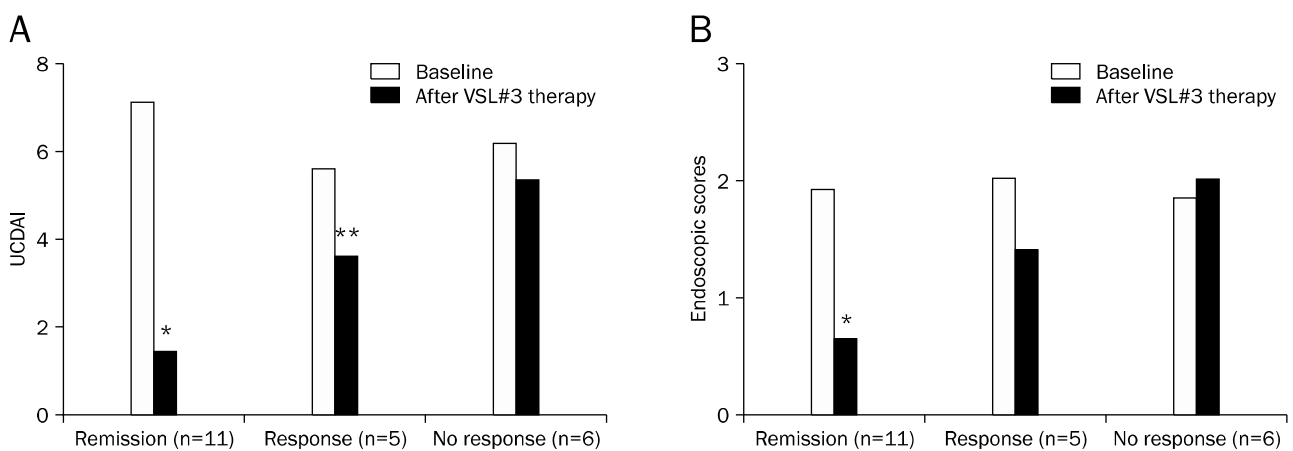


Fig. 1. Bar diagrams showing (A) ulcerative colitis disease activity index (UCDAI) scores and (B) endoscopic scores before and after administration of VSL#3 for each responding group (* $p < 0.001$, ** $p = 0.011$). Two patients did not complete the final endoscopic assessment.

VSL#3 투여 후에는 UCDAI 점수는 관해군(1.45 ± 1.29 , $p < 0.001$)과 부분반응군(3.60 ± 1.52 , $p = 0.011$)에서 의미있게 감소하였으나 무반응군(5.33 ± 0.51 , $p = 0.259$)에서는 의미있는 차이가 없었다(Fig. 1). 내시경 점수는 관해군(0.64 ± 0.50 , $p < 0.001$)에서는 의미있게 감소하였으나 반응군(1.40 ± 0.55 , $p = 0.070$)과 무반응군(2.00 ± 0.00 , $p = 0.363$)에서는 의미있는 차이가 없었다(Fig. 1). 혈액검사에서는 VSL#3 투여 전후로 각 군에서 hemoglobin, hematocrit, albumin, CRP 수치에서 통계적으로 유의한 차이는 없었다. ESR은 관해군에서 14.00 mm/hour에서 6.55 mm/hour로 감소하였고($p = 0.035$) 부분반응군에서는 29.20 mm/hour에서 21.80 mm/hour로 차이가 없었으며($p = 0.686$) 무반응군에서는 13.20 mm/hour에서 25.00 mm/hour로 증가하였다($p = 0.080$).

3. 대장조직 사이토카인의 변화

VSL#3 투여 전 대장조직 내 전 대장조직에서 측정된 TNF- α , IFN- γ , IL-12, IL-10과 같은 사이토카인의 농도와 혈

액에서 측정된 ESR, CRP의 농도는 세 군 간에 유의한 차이는 없었다(Table 3). VSL#3 투여 후 대장조직에서 측정된 TNF- α 는 관해군에서 88.44 pg/mL에서 109.99 pg/mL로 상승하였다($p = 0.508$). 부분반응군에서는 84.00 pg/mL에서 17.29 pg/mL로 감소하였고($p = 0.138$) 무반응군의 경우 181.58 pg/mL에서 18.41 pg/mL로 감소하였으나 통계적으로 유의하지는 않았다($p = 0.259$). IFN- γ 는 관해군에서 401.77 pg/mL에서 541.17 pg/mL로 상승하였고($p = 0.477$) 무반응군의 경우 716.11 pg/mL에서 105.81 pg/mL로 감소하였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다($p = 0.106$). 부분반응군에서는 445.27 pg/mL에서 136.04 pg/mL로 통계적으로 의미있게 감소하였다($p < 0.05$). IL-12는 관해군에서 53.24 pg/mL에서 47.67 pg/mL로 감소하였으나 통계적으로 유의하지는 않았다($p = 0.161$). 부분반응군 및 무반응군에서는 각각 84.82 pg/mL에서 16.44 pg/mL, 118.16 pg/mL에서 43.38 pg/mL로 감소하였으며 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p < 0.05$). IL-10은 관해군에서 76.97 pg/mL에서 159.38 pg/mL로 상승하였으

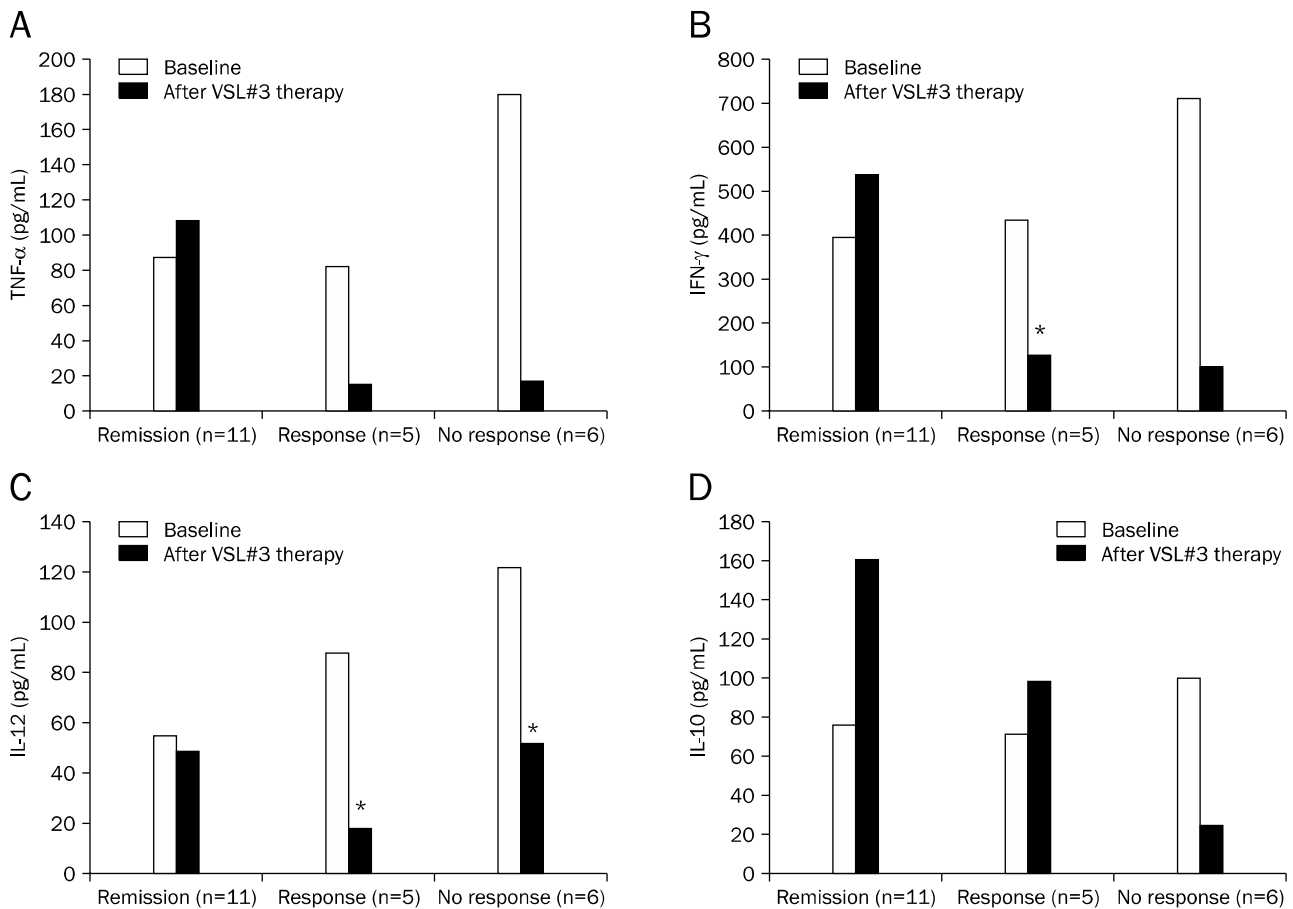


Fig. 2. Bar diagrams showing the colonic cytokine profile before and after administration of VSL#3 for each responding group in (A) tumor necrosis factor (TNF)- α , (B) interferon (IFN)- γ , (C) interleukin (IL)-12, and (D) IL-10. * $p < 0.05$. Two patients did not complete the final colonic tissue sampling.

며($p=0.534$) 부분반응군에서는 71.47 pg/mL에서 98.33 pg/mL로 상승하였다($p=0.500$). 무반응군에서는 IL-10은 100.34 pg/mL에서 24.68 pg/mL로 감소하였다($p=0.176$) (Fig. 2).

4. 이상반응

총 24명의 환자 중에서 연구 기간 중 VSL#3 복용 후에 복부팽만감, 소화불량, 경미한 복통의 증상이 4명의 환자에서 관찰되었으며 복부팽만감의 부작용으로 1명의 환자가 VSL#3 복용을 중단하였다.

고 찰

프로바이오틱스는 장점막의 방어막을 유지해 주며, 병적인 세균의 성장을 막고, 여러 면역세포에 작용하여 면역 반응을 조절하여 만성 염증을 막아주는 것으로 알려져 있다.^{1,5,16} 또한 점액, 미생물에 대항하는 단백질과 분비성 면역글로불린 A의 분비를 증가시키고, 장상피세포 사이의 치밀이음의 결합력을 증가시킨다.¹⁷ 프로바이오틱스의 특정 종의 경우에는 염증성 사이토카인의 분비를 억제하고 조절 T세포의 작용을 유도한다고 한다.^{5,14,18,19}

다양한 프로바이오틱스 복합체인 VSL#3의 염증성 장질환 환자에서의 효능에 대해서는 여러 보고가 있었다. 만성 재발성 회장염 환자들을 대상으로 한 연구에서는 VSL#3를 투여한 군에서 15%의 낮은 재발률을 보였다.²⁰ 다기관, 이중맹검, 위약대조군 연구에서도 활동성 궤양성 대장염 환자에서 VSL#3 투약군이 위약 대조군보다 높은 관해율과 임상 증상의 호전을 보였다.²¹ 소아를 대상으로 한 다기관, 이중맹검, 위약대조군 연구에서도 VSL#3 투약군이 관해유도율 92.8%로 대조군의 36.4%보다 높았으며 1년 내의 재발률도 21.4%로 대조군의 73.3%보다 우월한 효과를 보였다.²²

이번 연구에서는 기존의 치료에도 악화된 정도 및 중등도의 궤양성 대장염 환자에서 VSL#3가 임상적으로 상당히 높은 관해율(45.8%)과 부분반응률(20.8%)을 보여 기존의 연구와 비슷한 결과를 보였다. 관해군과 부분반응군에서의 UCDAI 점수의 감소도 의미있게 나타났으며 관해군에서 내시경 점수의 감소도 의미있게 나타났다. 또한 VSL#3 투여 후에 ESR도 관해군, 부분반응군에서는 하강하였으나 무반응군에서는 상승하였다.

최근의 동물실험을 통한 연구에 따르면 VSL#3가 만성염증을 호전시키는 것과 더불어 장내 세균의 다양성을 감소시키는 것으로 나타났다. 이러한 실험결과는 VSL#3가 장내 유해균의 다양성을 저해하면서 장염을 억제시킬 수 있는 유익한 균주로 장내 균주의 종류를 바꾸는 역할을 하고 있음을 보여

준다.²³ Iodoacetamide 유발 대장염 모델을 통해서 VSL#3가 myeloperoxidase 활성도의 감소와 nitric oxide synthase 활성도의 감소를 통해 대장염의 정도를 감소시켰다.²⁴ VSL#3는 위산과 담즙산에도 살아남아 장관내 군집을 이루며 면역 반응을 조절하고 상피 세포의 방어막을 증진시키며 점액의 생성을 증가시키는 것이 연구를 통해 알려져 있다.^{5,12,20,24-27}

궤양성 대장염 환자의 대장조직에서 IL-6, IL-8, TNF- α , IFN- γ 와 같은 염증성 사이토카인이 정상대조군에 비해 증가되어 있다는 연구결과들은 잘 알려져 있다.^{28,29} 항염증성 사이토카인인 IL-10의 경우에는 크론병에서는 감소되어 있었으나 궤양성 대장염에서는 증가된 소견을 보였다는 보고가 있다.³⁰

VSL#3 투여 이후의 조직 내 혹은 혈중 사이토카인의 농도의 변화에 대한 연구도 과거 다양하게 이루어졌다. VSL#3가 항염증 사이토카인인 IL-10은 증가시키고 염증성 사이토카인인 TNF- α , IFN- γ , IL-1 β 의 분비는 감소시켰다는 보고가 있다.^{4,5,14} VSL#3 투여 이후에 장내 수지상세포에서 IL-10은 증가하고 IL-12p40 분비는 감소했고 이러한 변화가 임상적인 증상의 호전과도 연관이 있다는 보고도 있다.³¹ 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid를 이용하여 대장염을 유발한 마우스 실험에서 VSL#3투여가 대장염의 발생을 지연시켰고 대장 세포내의 TNF- α , IL-6, IFN- γ 를 감소시켰다.³² 하지만 VSL#3를 SAMP1/YitFc마우스에 투여한 연구에서는 염증성 사이토카인인 TNF- α 가 증가하면서 장세포의 염증과 투과성을 감소시켰다는 보고²⁹도 있어 다른 연구결과와 상반된 결과를 보였다. VSL#3 투여와 사이토카인의 농도 변화를 알아본 연구는 대부분 소규모로 서로 다른 대상과 실험방법으로 이루어졌기 때문에 일관된 결과를 보이지 않았을 것으로 여겨진다. 이번 연구에서는 VSL#3 투여 후의 대장 조직의 항염증 사이토카인인 IL-10의 농도가 관해군, 부분반응군에서는 상승하였으며 무반응군에서는 하강하는 추세를 보였다. 하지만 관해군에서 염증성 사이토카인인 TNF- α , IFN- γ , IL-12의 의미있는 감소 혹은 상승은 확인하지 못했다. 부분반응군에서는 IFN- γ 및 IL-12가 통계적으로 유의하게 감소하였으며, 무반응군에서 IL-12 농도가 의미있게 감소하였다.

사이토카인은 개인별 농도 차이가 큰 검사이기 때문에 연구대상 환자수가 적었던 이번 연구에서는 관해군에서 염증성 사이토카인의 감소를 증명하지 못한 것으로 보인다.

정도 및 중등도의 궤양성 대장염을 치료하는 메살라민으로 치료하는 것이 현재는 최선의 치료이다. 메살라민 복합물의 경우 류코트리엔이나 프로스타글란딘, 혈소판 활성인자들과 같은 궤양성 대장염의 병인에 주 역할을 하고 있는 염증성 매개체들의 강력한 저해제이다. 하지만 궤장염, 탈모, 복통, 급성 신장염 등의 부작용으로 메살라민을 사용하지 못하거나 기대한 만큼의 효과를 나타내지 못하는 경우도 있다.^{33,34} 이번

연구에서도 여러 군주가 혼합되어 있는 VSL#3가 기존의 메살라민을 이용한 치료에 반응이 좋지 않거나 재발한 환자들에게 병용투여되어 상당히 좋은 효과를 보였다고 할 수 있겠다.³⁵ 하지만 최근의 코크란 리뷰에 따르면 프로바이오틱스가 활동성 궤양성 대장염 환자에서 충분한 효과가 있음을 입증하지는 못했다고 결론내리고 있다.³⁶ 그간의 연구들이 다양한 프로바이오틱스를 대상으로 하였기 때문에 용량의 불충분함, 효능이 없는 군주의 선택 등이 활동성 궤양성 대장염에서의 프로바이오틱스의 효과를 입증하지 못했을 수 있다고 생각된다.³⁵ 성별이나 연령, 생활습관, 병변의 정도나 범위, 가족력도 치료에 대한 반응을 결정하는 데 영향을 미칠 것으로 여겨진다. 현재 VSL#3의 지속적인 복용은 기존의 메살라민 제제에 비해 경제적인 비용 측면에서 상당히 불리하기 때문에 어떤 환자군에서 효과를 보일지에 대한 대규모 연구가 필요하다고 생각된다.

이번 연구는 몇몇 제한점을 지니고 있다. 첫째, 대조군이 없어서 실제의 효능보다 과대하게 평가될 수 있었다. 둘째, 8주의 단기간에 이루어진 연구로 관해 유지에 미치는 효과에 대해서는 평가할 수가 없었다. 셋째, 치료 후 대장조직의 사이토카인 변화 여부를 알아보기에는 소규모 연구였다. 넷째, 기존의 치료를 병행하면서 VSL#3를 추가적으로 복용하였기 때문에 VSL#3의 투여와는 상관없이 증상이 호전된 환자들도 있었을 것으로 보여 VSL#3만의 효능을 살펴보기에는 한계가 있었다.

결론적으로 이번 연구는 기존의 치료에도 악화된 혹은 재발한 궤양성 대장염 환자에서 VSL#3 치료가 약 66.6%의 환자에서 임상적인 관해 또는 부분반응을 보여 치료제로서의 가능성을 보여주었다고 하겠으나 앞으로 대규모의 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

요 약

목적: 기존의 치료에도 불구하고 악화된 경, 중등도의 활동성 궤양성 대장염 환자에 있어서 8주간의 VSL#3 투여 전후의 임상반응과 내시경 검사를 통해 채취한 대장 조직에서의 사이토카인 농도의 변화를 살펴보고자 하였다.

대상 및 방법: 2011년 1월부터 11월까지 서울송도병원에 내원한 궤양성 대장염 환자 중 메살라민을 포함한 기존의 치료를 적어도 2주 이상 유지하다가 증상이 악화된 24명의 환자를 대상으로 하였다. 연구 참여자들은 VSL#3를 하루에 2포씩 2회 총 4포를 찬물에 타서 총 8주간 복용하도록 하였다. VSL#3 투여 전과 투여 후로 UCDAI 점수와 대장조직 사이토카인 농도를 확인하였다.

결과: 총 24명 환자의 평균 나이는 43.7 ± 14.4 세였으며 남자

환자가 15명으로 전체 환자의 62.5%를 차지하였다. 증상이 지속된 평균 기간은 54.6 ± 54.7 개월이었다. 총 22명의 환자가 VSL#3를 복용하였으며 연구에 필요한 검사를 완료하였다. VSL#3 투여 후에 반응의 정도는 관해군 11명(45.8%), 부분반응군 5명(20.8%) 및 무반응군 6명(25.0%)이었다. VSL#3 투여 후 관해군에서 UCDAI 점수는 7.09 ± 1.81 에서 1.45 ± 1.29 로 감소하였으며($p < 0.001$) 내시경 점수는 1.91 ± 0.54 에서 0.63 ± 0.50 로 감소하였다($p < 0.001$). VSL#3 투여 전후 대장조직 내 TNF- α , IFN- γ , IL-12, IL-10의 농도를 비교하였을 때, 관해군에서는 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

결론: 기존의 치료에도 악화된 경도-중등도의 궤양성 대장염 환자에서 VSL#3 치료가 약 66.6% 환자에서 임상적인 관해 또는 부분반응을 보여 치료제로서의 가능성을 보여주었다.

색인단어: 프로바이오틱스; 궤양성 대장염; 사이토카인

REFERENCES

- Cebra JJ. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am J Clin Nutr* 1999;69:1046S-1051S.
- MacDonald TT, Monteleone G, Pender SL. Recent developments in the immunology of inflammatory bowel disease. *Scand J Immunol* 2000;51:2-9.
- Targan SR, Shanahan F, Karp LC. Inflammatory bowel disease. 1st ed. New delhi, India: Wiley-Blackwell, 2010.
- Sartor RB. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006;3:390-407.
- Madsen K, Cornish A, Soper P, et al. Probiotic bacteria enhance murine and human intestinal epithelial barrier function. *Gastroenterology* 2001;121:580-591.
- Guarner F, Schaafsma GJ. Probiotics. *Int J Food Microbiol* 1998; 39:237-238.
- Salminen S, von Wright A, Morelli L, et al. Demonstration of safety of probiotics – a review. *Int J Food Microbiol* 1998;44:93-106.
- Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, et al. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clin Infect Dis* 2003; 36:775-780.
- Baumgart DC, Sandborn WJ. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet* 2007;369:1641-1657.
- Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, Chalmers DM, Axon AT. Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. *Lancet* 1999; 354:635-639.
- Kato K, Mizuno S, Umesaki Y, et al. Randomized placebo-controlled trial assessing the effect of bifidobacteria-fermented milk on active ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20:1133-1141.
- Bibiloni R, Fedorak RN, Tannock GW, et al. VSL#3 probiotic-mixture induces remission in patients with active ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2005;100:1539-1546.

13. Choi CH, Jung SA, Lee BI, Lee KM, Kim JS, Han DS; IBD Study Group of the Korean Association of the Study of Intestinal Diseases. Diagnostic guideline of ulcerative colitis. *Korean J Gastroenterol* 2009;53:145-160.
14. Chapman TM, Plosker GL, Figgitt DP. VSL#3 probiotic mixture: a review of its use in chronic inflammatory bowel diseases. *Drugs* 2006;66:1371-1387.
15. Schroeder KW, Tremaine WJ, Ilstrup DM. Coated oral 5-aminosalicylic acid therapy for mildly to moderately active ulcerative colitis. A randomized study. *N Engl J Med* 1987;317:1625-1629.
16. Chassaing B, Darfeuille-Michaud A. The commensal microbiota and enteropathogens in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011;140:1720-1728.
17. Ohland CL, Macnaughton WK. Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010;298:G807-G819.
18. Sartor RB. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology* 2004;126:1620-1633.
19. Prisciandaro L, Geier M, Butler R, Cummins A, Howarth G. Probiotics and their derivatives as treatments for inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:1906-1914.
20. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, et al. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2000;119:305-309.
21. Sood A, Midha V, Makharia GK, et al. The probiotic preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:1202-1209.
22. Miele E, Pascarella F, Giannetti E, Quaglietta L, Baldassano RN, Staiano A. Effect of a probiotic preparation (VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 2009;104:437-443.
23. Uronis JM, Arthur JC, Keku T, et al. Gut microbial diversity is reduced by the probiotic VSL#3 and correlates with decreased TNBS-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2011;17:289-297.
24. Shibolet O, Karmeli F, Eliakim R, et al. Variable response to probiotics in two models of experimental colitis in rats. *Inflamm Bowel Dis* 2002;8:399-406.
25. Rachmilewitz D, Karmeli F, Takabayashi K, et al. Immunostimulatory DNA ameliorates experimental and spontaneous murine colitis. *Gastroenterology* 2002;122:1428-1441.
26. Rachmilewitz D, Katakura K, Karmeli F, et al. Toll-like receptor 9 signaling mediates the anti-inflammatory effects of probiotics in murine experimental colitis. *Gastroenterology* 2004;126:520-528.
27. Otte JM, Podolsky DK. Functional modulation of enterocytes by gram-positive and gram-negative microorganisms. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004;286:G613-G626.
28. Lammers KM, Brigidi P, Vitali B, et al. Immunomodulatory effects of probiotic bacteria DNA: IL-1 and IL-10 response in human peripheral blood mononuclear cells. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003;38:165-172.
29. Pagnini C, Saeed R, Bamias G, Arseneau KO, Pizarro TT, Cominelli F. Probiotics promote gut health through stimulation of epithelial innate immunity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:454-459.
30. Akagi S, Hiyama E, Imamura Y, Takesue Y, Matsuura Y, Yokoyama T. Interleukin-10 expression in intestine of Crohn disease. *Int J Mol Med* 2000;5:389-395.
31. Ng SC, Plamondon S, Kamm MA, et al. Immunosuppressive effects via human intestinal dendritic cells of probiotic bacteria and steroids in the treatment of acute ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2010;16:1286-1298.
32. Mencarelli A, Distrutti E, Renga B, et al. Probiotics modulate intestinal expression of nuclear receptor and provide counter-regulatory signals to inflammation-driven adipose tissue activation. *PLoS One* 2011;6:e22978.
33. Uslu N, Demir H, Saltik-Temizel IN, Topaloglu R, Gurakan F, Yuce A. Acute tubular injury associated with mesalazine therapy in an adolescent girl with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 2007;52:2926-2929.
34. Frandsen NE, Saugmann S, Marcussen N. Acute interstitial nephritis associated with the use of mesalazine in inflammatory bowel disease. *Nephron* 2002;92:200-202.
35. Chapman CM, Gibson GR, Rowland I. Health benefits of probiotics: are mixtures more effective than single strains? *Eur J Nutr* 2011;50:1-17.
36. Mallon P, McKay D, Kirk S, Gardiner K. Probiotics for induction of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;(4):CD005573.