

## 마우스 RAW264.7 세포에 대한 비지 추출물의 항염증 활성

박수빈<sup>1</sup>, 송훈민<sup>1,3</sup>, 김하나<sup>1</sup>, 박광훈<sup>2</sup>, 손호준<sup>2</sup>, 엄유리<sup>2</sup>, 박지애<sup>1,3</sup>, 정진부<sup>1,4\*</sup>

<sup>1</sup>안동대학교 생약자원학과, <sup>2</sup>국립산림과학원 산림약용자원연구소, <sup>3</sup>국립백두대간수목원, <sup>4</sup>안동대학교 농업과학기술연구소

### Anti-Inflammatory Effect of Biji (Soybean curd residue) on LPS-Stimulated RAW264.7 Cells

Su Bin Park<sup>1</sup>, Hun Min Song<sup>1,3</sup>, Ha Na Kim<sup>1</sup>, Gwang Hun Park<sup>2</sup>, Ho-Jun Son<sup>2</sup>, Yurry Um<sup>2</sup>,  
Ji Ae Park<sup>1,3</sup> and Jin Boo Jeong<sup>1,4\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Medicinal Plant Resources, Andong National University, Andong 36729, Korea

<sup>2</sup>Forest Medicinal Resources Research Center, National Institute of Forest Science, Yeongju 36040, Korea

<sup>3</sup>Baekdudaegan National Arboretum, Bonghwa 36209, Korea

<sup>4</sup>Agricultural Science and Technology Research Institute, Andong National University, Andong 36729, Korea

**Abstract** - In this study, we evaluated anti-inflammatory effect of biji in LPS-stimulated RAW264.7 cells. Biji inhibited the generation of NO and PGE<sub>2</sub> through the suppression of iNOS and COX-2 expression. In addition, biji attenuated the expression of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  induced by LPS. Biji blocked LPS-mediated I $\kappa$ B- $\alpha$  degradation and subsequently inhibited p65 nucleus accumulation in RAW264.7 cells, which indicates that biji inhibits NF- $\kappa$ B signaling. In addition, biji suppressed p38 phosphorylation induced by LPS. Our results suggests that biji may exert anti-inflammatory activity through blocking the generation of the inflammatory mediators such as NO, PGE<sub>2</sub>, iNOS, COX-2, TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  via the inhibiting the activation of NF- $\kappa$ B and p38. From these findings, biji has potential to be a candidate for the development of chemoprevention or therapeutic agents for inflammatory diseases.

**Key words** - Anti-inflammation, Biji, MAPK, NF- $\kappa$ B

## 서 언

전 세계적으로 고령화 사회에 진입하고 있는 가운데 경제력이 있는 노인층이 증가하고, 건강에 대한 소비자들의 니즈(needs)가 확대되면서 다양한 복합원인에 의한 만성 및 난치성 질환의 증가로 질병예방에 위한 식의약에 대한 연구개발과 관련 분야의 성장은 지속될 것으로 판단되고 있고, 최근 Well-being 트렌드와 건강에 대한 관심 고조로 인해 우수한 효능이 기능성 소재 개발이 요구되고 있는 실정이다.

비지(Biji)는 두부 또는 두유를 제조하는 과정에서 생산되는 부산물로 제조과정에서 대두로부터 수용성물질이 빠져나간 상태이지만 인체에 유용한 성분이 남아 있는 것으로 알려져 있다

(Kim *et al.*, 1996). 그러나 비지는 동물용 사료로 일부 활용되고 있으나 쉽게 부패되어 대부분은 폐기물로 처리되고 있는 실정이다(Kim *et al.*, 1996). 최근 비지가 항비만(Matsumoto *et al.*, 2007, Yun *et al.*, 2010, Choi *et al.*, 2011), 항고지혈(Matsumoto *et al.*, 2007), 항산화 및 면역활성(Shi *et al.*, 2012) 효과가 있는 것으로 보고되어 비지를 유용한 자원으로 이용하기 위한 기능성 연구가 진행되고 있다.

염증은 감염 또는 조직 손상을 비롯한 다양한 외부 자극에 대한 생체 내 방어적 반응이지만(Zedler and Faist, 2006; Mariathasan and Monack, 2007), 과도한 염증반응은 활성화된 염증세포가 nitric oxide (NO), prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), interleukin-1beta (IL-1 $\beta$ ), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 등 만성염증 매개인자의 다량 분리를 유도하여 과민성 알러지 질환, 만성염증, 류마티스 관절염, 암 등과 같은 다양한 질환을 유도한다고 알려져 있다(Gracie *et al.*, 1999; Kinne *et al.*, 2000). 만성염증 매개인자

\*교신저자: jjb0403@anu.ac.kr

Tel. +82-54-820-7757

의 발현은 염증 신호에 의한 nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)와 mitogen-activated protein kinase (MAPK) 신호전달의 활성화에 기인한다고 알려져 있다(Dong *et al.*, 2002). 그리하여 만성염증 매개인자들의 발현과 이들 유전자들의 발현에 있어 주요 신호전달 분자인 NF- $\kappa$ B와 MAPK의 활성화 조절은 항염증제 개발을 위한 주요한 핵심분자 타겟으로 인식되고 있고, 이들 인자들의 활성을 억제하는 신규 후보 소재의 탐색연구가 활발히 진행되고 있다(Park *et al.*, 2012).

현존하는 항염증제는 히드로코르티손, 베타메타손 등의 스테로이드계와 아스피린, 이부프로펜 등의 비스테로이드계로 이들 항염증제는 위염, 신장염, 심장질환 등의 부작용을 초래하여 천연으로부터 안전한 항염증 관련 식의약소재 개발에 대한 연구가 진행되고 있다(Makins and Ballinger, 2003; Dogne *et al.*, 2006).

본 연구는 비지의 항염증 관련 식의약 소재 적용을 위해 기초 자료를 확보하고자 비지 추출물의 세포기반 항염증 활성을 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

마우스 대식세포 RAW264.7의 배양을 위해 사용된 배지인 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)/F-12 1:1 Modified Medium (DMEM/F-12)는 Lonza (Walkersville, MD, USA)에서 구매하였다. Lipopolysaccharide (LPS)는 Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구매되었고 western blot 분석을 위한 항체인 I $\kappa$ B- $\alpha$ , p65, p-ERK1/2, total-ERK1/2, p-p38, total-p38, TBP 및  $\beta$ -actin은 Cell Signaling (Beverly, MA, USA)에서 구매되었다.

### 비지 추출물 제조

본 연구에서 사용된 비지는 경북 안동에 위치한 안동농협더헛 식품사업소에서 국내산 청자콩(*Glycine max*, cv. Cheongjakong)을 이용하여 두부 생산 공정 중 두유와 비지를 분리하는 작업에서 배출된 생비지를 열풍건조(Forced Convection Oven, Program-type, ENBIO Lab., Korea) 하여 사용하였다. 비지추출물은 건조된 비지를 증류수로 비지 무게 당 20배를 첨가하여 4°C에서 48시간 교반하면서 추출(Shaking Incubator, Hyang Scientific Equipment Co., LTD, Korea)하였다. 추출 후 상등액을 동결건조(EYELA Freeze Dryer, SUNIL EYELA CO.,

LTD, Korea) 하여 실험재료로 사용하였다. 본 연구에 사용된 비지원료인 청자콩은 중원대학교 박재호 교수에 의해 동정되었으며, 시료의 표본은(표본번호 Jeong-1001 (ANH)) 안동대학교 생약자원학과에 보관하고 있다.

### RAW264.7 세포배양

본 연구에서 사용된 마우스 대식세포 RAW264.7은 한국세포주은행에서 구매되었고, RAW264.7세포는 Namkoong 등의 방법(Namkoong *et al.*, 2015)에 따라 배양하였다. RAW264.7세포는 10% fetal bovine serum (FBS), 100 U/ml penicillin and 100  $\mu$ g/ml streptomycin이 포함된 DMEM/F-12 배지로 37°C에서 5% CO<sub>2</sub> 하에서 유지하였다. 시료처리를 위해 비지추출물은 1×phosphate-buffered saline (PBS)에 용해하였고, 대조구는 1×PBS를 사용하였다.

### Nitric oxide (NO) 측정

NO는 Namkoong 등의 방법(Namkoong *et al.*, 2015)을 변경하여 측정하였다. 마우스 대식세포 RAW264.7을 12-well plate에  $5 \times 10^5$ /well이 되도록 분주하고 24시간 동안 배양하였다. 24시간 후 비지 추출물을 0, 0.2, 0.4, 0.8 또는 1.6 mg/ml 농도로 처리하고 2시간 동안 배양하였다. 2시간 후 LPS를 1  $\mu$ g/ml의 농도로 처리하고 18시간 배양하였다. Nitric oxide의 측정은 Griess reagent system (Promoga)을 이용하여 측정하였다.

### Prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) 측정

PGE<sub>2</sub>는 Namkoong 등의 방법(Namkoong *et al.*, 2015)을 변경하여 측정하였다. 마우스 대식세포 RAW264.7을 12-well plate에  $5 \times 10^5$ /well이 되도록 분주하고 24시간 동안 배양하였다. 24시간 후 비지 추출물을 0, 0.2, 0.4, 0.8 또는 1.6 mg/ml 농도로 처리하고 2시간 동안 배양하였다. 2시간 후 LPS를 1  $\mu$ g/ml의 농도로 처리하고 18시간 배양하였다. PGE<sub>2</sub>의 측정은 ELISA Kit를 이용하여 측정하였다.

### SDS-PAGE 및 western blot 분석

비지추출물과 LPS가 처리된 RAW264.7 세포에서 단백질을 추출하기 위해서 세포를 1×phosphate-buffered saline (PBS)로 3회 세척한 후, protease inhibitor cocktail (Sigma-Aldrich)과 phosphatase inhibitor cocktail (Sigma-Aldrich)이 포함된 radioimmunoprecipitation assay (RIPA) buffer (Boston Bio Products, Ashland, MA, USA)를 4°C에서 30분간

처리하여 lysis시켜 단백질을 얻었다. Bicinchoninic acid (BCA) protein assay (Pierce, Rockford, IL, USA)로 단백질 정량 후, 동일량의 단백질을 12% SDS-acrylamide에 loading하고 PVDF membrane (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA)에 이동시킨 후 5% non-fat dry milk로 상온에서 1시간 동안 blocking하였다. 1시간 후, 1차 항체를 5% non-fat dry milk에 용해시켜 4°C에서 14시간 동안 반응시킨 후 membrane을 0.05% tween-20이 포함된 tris-buffered saline (TBS-T)로 5분간 3회 세척하였다. 그 후 2차 항체는 5% non-fat dry milk에 용해시켜 membrane에 상온에서 1시간 처리하였고, TBS-T로 5분간 3회 세척 후 membrane은 ECL western blotting substrate (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA)를 이용하여 단백질을 확인하였다.

**Reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)**

Total RNA 추출은 비지추출물과 LPS가 처리된 RAW264.7 세포로부터 RNeasy Mini kit (Qiagen, Valencia, CA, USA)를 이용하여 수행되었고, cDNA는 1 µg의 total RNA를 Verso cDNA kit (Thermo Scientific, Pittsburgh, PA, USA)를 이용하여 제조되었다. PCR은 PCR master mix kit (Promega, Madison, WI, USA)를 이용하여 수행되었고, 사용된 primer는 Table 1과 같다.

**통계분석**

모든 결과는 3회 반복 측정 후 평균 ± 표준편차로 나타내었고, 처리간 유의성은 Student's t-test로 검증하여 p-value 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판정하였다(Microsoft Excel 2010).

**결과 및 고찰**

**비지추출물의 iNOS와 COX-2 발현 억제를 통한 NO 및 PGE<sub>2</sub> 생성억제효과**

NO는 감염 또는 조직 손상을 비롯한 다양한 외부 자극으로 대식세포가 활성화 되어 생성되는 것으로, inducible nitric oxide synthase (iNOS)에 의해 L-arginine으로부터 생성된다. iNOS에 의한 과도한 NO는 패혈성 쇼크, 류마티스관절염 등과 같은 염증성 질환을 유발한다(Laskin and Pendino, 1995, Wu and Morris, 1998; Bogdan, 2001). 또한 염증반응 시 cyclooxygenase-2 (COX-2)에 의해 생성되는 PGE<sub>2</sub>도 염증관련 질병을 유발하는 것으로 보고되고 있다(DuBois *et al.*, 1994; Smith *et al.*, 1994; Harris *et al.*, 2002). 비지추출물의 NO와 PGE<sub>2</sub> 생성 억제효과를 측정한 결과, 비지추출물은 LPS가 처리된 RAW264.7 세포에서 농도의존적으로 NO와 PGE<sub>2</sub>의 생성을 억제하였다(Fig. 1A and 1B). NO와 PGE<sub>2</sub>의 생성은 각각 iNOS와 COX-2에 의해 생성되기 때문에, 비지추출물의 NO와 PGE<sub>2</sub> 생성 억제가 iNOS와 COX-2 발현억제에 기인하는지 확인하기 위해 RT-PCR 방법으로 유전자 발현을 조사하였다. 그 결과, 비지추출물은 NO와 PGE<sub>2</sub> 생성억제와 유사하게 iNOS와 COX-2의 발현을 억제하였다(Fig. 1C). 염증반응을 유도하는 인자인 NO와 PGE<sub>2</sub>, 그리고 이 염증인자의 생성을 조절하는 iNOS와 COX-2의 조절은 항염증 관련 타겟으로 중요하다고 여겨지고 있기 때문에 비지추출물의 iNOS와 COX-2 발현 조절을 통한 NO와 PGE<sub>2</sub> 생성 억제는 비지추출물의 항염증 소재 적용에 대한 가능성을 보여주는 것으로 판단된다.

Table 1. Sequence of oligonucleotide primers used for RT-PCR

Gene name	Sequence
iNOS	Forward : 5'-aatggcaacatcaggtcggccatcact-3' Reverse : 5'-gctgtgtgtcacagaagtctcgaactc-3'
COX-2	Forward : 5'-ggagagactatcaagatagt-3' Reverse : 5'-atggtcagtagacttttaca-3'
TNF-α	Forward : 5'-tccaggcggctgctatgt-3' Reverse : 5'-cgatcaccgccgaagttcagt-3'
IL-1β	Forward : 5'-acctgtctgtgtaaatgaaagacg-3' Reverse : 5'-ttggtattgcttgggatcc-3'
GAPDH	Forward : 5'-ggcatggccttccgtgt-3' Reverse : 5'-ggtttctccaggcggca-3'

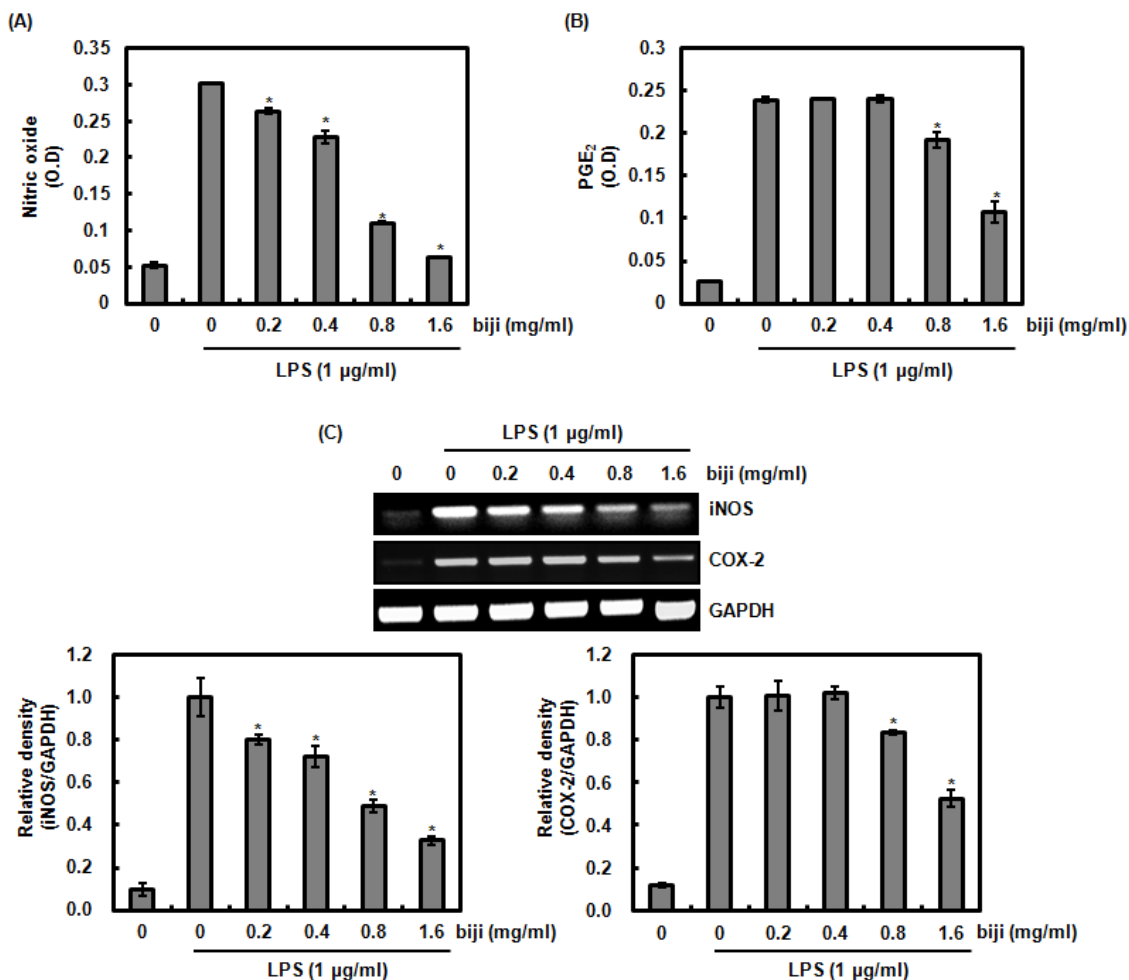


Fig. 1. Inhibitory effect of biji on the generation of NO and PGE<sub>2</sub> through the suppression of iNOS and COX-2 expression in LPS-stimulated RAW264.7 cells. (A and B) RAW264.7 cells were pretreated with biji at the indicated concentrations for 2 h, and then co-treated with LPS (1  $\mu$ g/ml) for 18 h. NO and PGE<sub>2</sub> were measured according to Materials and Methods. (C) RAW264.7 cells were pretreated with biji at the indicated concentrations for 2 h, and then co-treated with LPS (1  $\mu$ g/ml) for 18 h. For RT-PCR analysis of the gene expression of iNOS and COX-2, total RNA was prepared. GAPDH was used as internal control for RT-PCR. \*P < 0.05 compared to the cells without Biji.

**비지추출물의 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$  발현 억제 효과**

TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 는 주요한 만성염증 유발 사이토카인으로 염증관련 종양형성에 관여하며, 이 사이토카인의 대량생산은 내피세포의 염증, 염증질환, 패혈성 쇼크 등의 질환을 유발한다고 알려져 있다(Delgado *et al.*, 2003). 그리하여 이러한 염증성 사이토카인의 발현을 조절하는 물질은 염증성 질환을 예방할 수 있는 가능성이 있다고 알려져 있다(Lee *et al.*, 2011). 비지추출물이 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 생성에 미치는 영향을 평가하기 위해, LPS가 처리된 RAW264.7 세포에서의 비지추출물의 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 mRNA 발현조절을 조사하였다. 비지추출물이 처리되지

않은 세포에서는 LPS에 의해 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 mRNA 발현이 증가되었지만, 비지추출물은 농도의존적으로 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 mRNA 발현을 감소시켰다(Fig. 2). 본 결과는 비지추출물이 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 mRNA 발현을 억제하여 항염증 활성을 나타내는 것으로 판단된다.

**비지추출물의 RAW264.7 세포에서 NF- $\kappa$ B의 활성 억제효과**

NF- $\kappa$ B 신호전달은 만성염증 유발인자의 생성에 관여하는 것으로 알려져 있다. LPS와 같은 외부자극은 I $\kappa$ B- $\alpha$ 의 분해를 유도하여 p65의 핵내 전이를 유도하고, 핵 내 p65는 만성염증

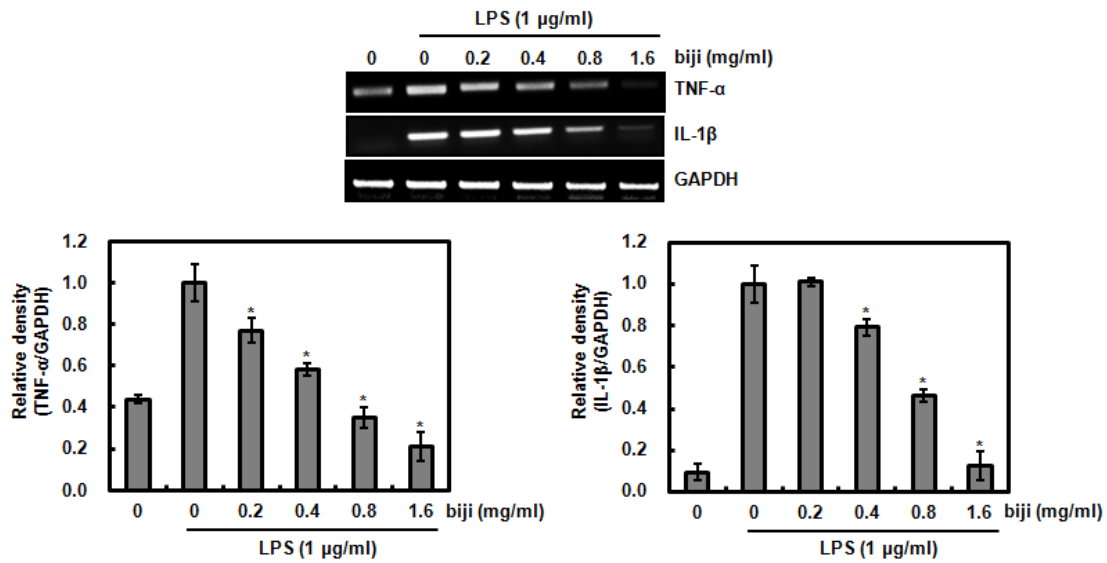


Fig. 2. Inhibitory effect of biji on the mRNA expression of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in LPS-stimulated RAW264.7 cells. RAW264.7 cells were pretreated with biji at the indicated concentrations for 2 h, and then co-treated with LPS (1  $\mu$ g/ml) for 18 h. For RT-PCR analysis of the gene expression of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ , total RNA was prepared. GAPDH was used as internal control for RT-PCR. \*P < 0.05 compared to the cells without Biji.

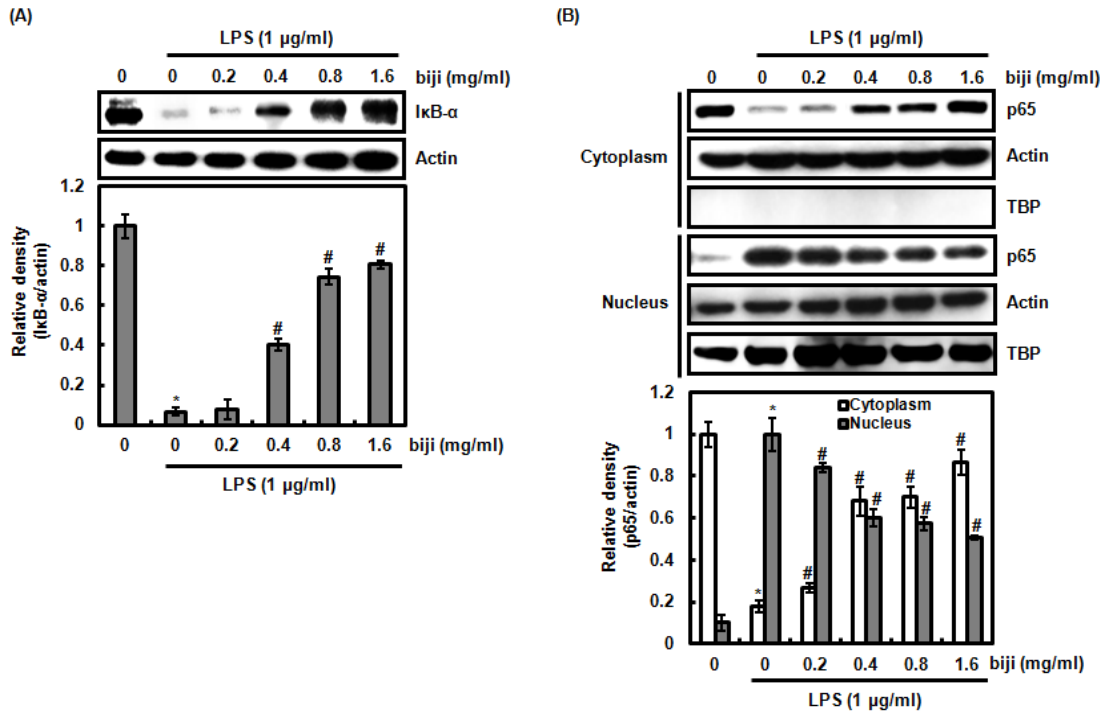


Fig. 3. Inhibitory effect of biji on NF- $\kappa$ B signaling in LPS-stimulated RAW264.7 cells. (A) RAW264.7 cells were pretreated with biji at the indicated concentrations for 2 h, and then co-treated with LPS (1  $\mu$ g/ml) for 15 min. Cell lysates were subjected to SDS-PAGE and the western blot was performed using antibody against I $\kappa$ B- $\alpha$ . Actin was used as internal control for western blot analysis. (B) RAW264.7 cells were pretreated with biji at the indicated concentrations for 2 h, and then co-treated with LPS (1  $\mu$ g/ml) for 30 min. After the treatment, cytoplasm and nucleus were isolated, respectively. Cell lysates were subjected to SDS-PAGE and the western blot was performed using antibody against p65. Actin and TBP were used as internal control for western blot analysis. \*P < 0.05 compared to the cells without the treatment, and #P < 0.05 compared to the cells treated with LPS alone.

유발인자 관련 DNA에 binding하여 만성염증 유발인자의 발현을 유도한다(Moynagh, 2005). 그리하여 염증질환 개선을 위해 염증을 유발하는 인자의 조절과 더불어 염증반응에 관련된 신호전달을 조절하는 것이 중요하다. 비지추출물의 NF- $\kappa$ B 신호전달 억제활성을 평가하기 위해 비지추출물의 LPS 유도 I $\kappa$ B- $\alpha$  분해와 p65의 핵 내 전이 억제를 조사하였다. 비지추출물이 처리되지 않은 세포에서는 LPS에 의해 I $\kappa$ B- $\alpha$ 의 분해가 유도되었지만 비지추출물이 처리된 세포에서는 유의적으로 I $\kappa$ B- $\alpha$ 의 분해가 억제되었다(Fig. 3A). 또한 LPS는 p65의 핵 내 전이를 유도하였으나, 비지추출물은 LPS에 의해 유도되는 p65의 핵 내 전이를 농도의존적으로 감소시켰다(Fig. 3B). 본 결과는 비지추출물은 NF- $\kappa$ B 신호전달 억제를 통해 항염증 활성을 나타내는 것을 보여준다.

### 비지추출물의 RAW264.7 세포에서 MAPK의 활성 억제효과

Mitogen-activated protein kinases (MAPK)는 세포의 증식, 분화 및 세포사멸 등의 생물학적반응을 조절하는 serine/threonine kinase로서 NF- $\kappa$ B 신호전달과 더불어 염증반응을 조절한다고 알려져 있다(Gi *et al.*, 2010). 비지추출물의 MAPK의 활성에 미치는 영향을 평가하기 위해, MAPK 구성인자인 ERK1/2와 p38의 인산화를 조사하였다. 비지추출물은 LPS에 의해서 유도되는 ERK1/2의 인산화에 대한 억제활성이 없었으나 p38의 인산화는 비지추출물에 의해서 농도의존적으로 급격히 억제되는 것을 확인하였다(Fig. 4). 본 결과는 비지추출물은 MAPK에서 p38의 활성화 억제를 통해 항염증 활성을 나타내는 것을 보여준다.

## 적 요

비지는 대두 가공 시 생산되는 부산물로 대부분 폐기되고 있는 실정이지만, 최근 비지를 유용한 자원으로 이용하기 위한 기능성 연구가 진행되고 있다. 그러나 비지의 항염증에 대한 연구가 미비하여 본 연구진은 비지추출물이 마우스 대식세포인 RAW264.7에 LPS에 의한 염증 반응에 미치는 영향을 평가하였다. 본 연구에서 비지추출물은 NF- $\kappa$ B와 p38의 활성 억제를 통해 만성염증 유발인자인 NO, iNOS, PGE<sub>2</sub>, COX-2, TNF- $\alpha$  및 IL-1 $\beta$ 의 발현을 억제하는 것으로 확인되었다. 따라서 비지는 독성과 부작용이 적은 항염증 관련 식의약 소재로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구는 농림축산식품부 고부가가치식품기술개발사업(과제번호: 115042-3)에 의해 이루어진 것의 일부이며, 이에 감사드립니다.

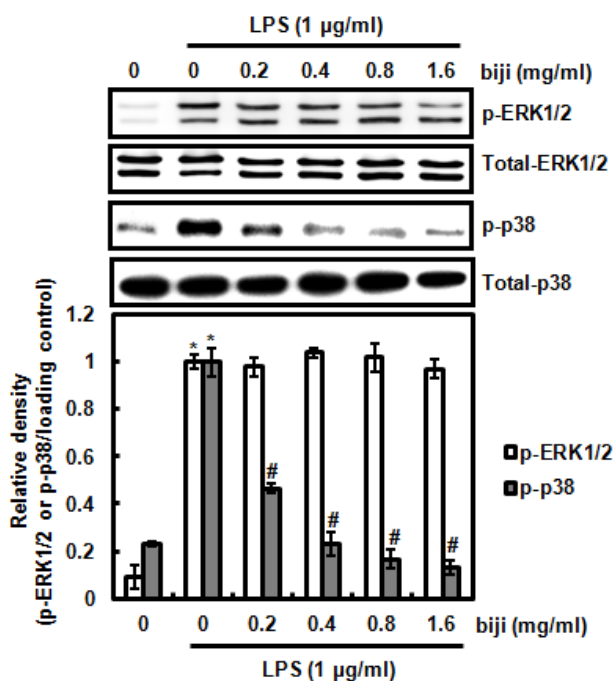


Fig. 4. Inhibitory effect of biji on MAPK signaling in LPS-stimulated RAW264.7 cells. RAW264.7 cells were pretreated with biji at the indicated concentrations for 2 h, and then co-treated with LPS (1  $\mu$ g/ml) for 15 min. Cell lysates were subjected to SDS-PAGE and the western blot was performed using antibody against p-ERK1/2, total-ERK1/2, p-p38 and total-p38. Total-ERK1/2 and total-p38 were used as internal control for western blot analysis. \*P < 0.05 compared to the cells without the treatment, and #P < 0.05 compared to the cells treated with LPS alone.

## References

Bogdan, C. 2001. Nitric oxide and the immune response. *Nat. Immunol.* 2:2907-2916.  
 Choi, M.S., J.I. Kim, J.B. Jeong, S.B. Lee, J.N. Jeong, H.J. Jeong, E.W. Seo, T.Y. Kim, O.J. Kwon and J.H. Lim. 2011. Suppressive effect of by-product extracts from soybean on adipocyte differentiation and expression of obesity-related genes in 3T3-L1 adipocytes. *J. Life Sci.* 21:358-367.

- Delgado, A.V., A.T. McManus and J.P. Chambers. 2003. Production of tumor necrosis factor- $\alpha$ , Interleukin 1- $\beta$ , interleukin 2, and interleukin 6 by rat leukocyte subpopulations after exposure to substance. *Proc. Neuropeptides*. 37:355-361.
- Dogne, J.M., J. Hanson, C. Supuran and D. Pratico. 2006. Coxibs and cardiovascular side-effects: from light to shadow. *Curr. Pharm. Des.* 12:917-975.
- Dong, C., R.J. Davis and R.A. Flavell. 2002. MAP kinases in the immune response. *Annu. Rev. Immunol.* 20:55-72.
- DuBois, R.N., M. Tsujii and P. Bishop. 1994. Cloning and characterization of a growth factor-inducible cyclooxygenase gene from rat intestinal epithelial cells. *Am. J. Physiol.* 266:822-827.
- Gi, X., X. Liang, G. Luo, Q. Yu, H. Li, D. Wang, R. Li and X. Deng. 2010. Regulation of inflammatory mediators in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells by 2'-hydroxy-3''-en-anhydroicaritin involves down-regulation of NF-kappa B and MAPK expression. *Int. Immunopharmacol.* 10:995-1002.
- Gracie, J.A., R.J. Forsey, W.L. Chan, A. Gilmour, B.P. Leung, M.R. Greer, K. Kennedy, R. Carter, X.O. Wei, D. Xu, M. Field, A. Foulis, F.Y. Liew and I.B. McInnes. 1999. A proinflammatory role for IL-18 in rheumatoid arthritis. *J. Clin. Invest.* 104:1393-1401.
- Harris, S.G., J. Padilla, L. Koumas, D. Ray and R.P. Phipps. 2002. Prostaglandins as modulators of immunity. *Trends Immunol.* 23:144-150.
- Kim, D.S., M.H. Seol and D.H. Kim. 1996. Changes in quality of soybean curd residue as affected by different drying methods. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 25:453-459.
- Kinne, R.W., R. Bruer, B. Stuhlmiller, E. Palombo-Kinne and G.R. Burmester. 2000. Macrophages in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2:189-202.
- Laskin, D. and K.J. Pendino. 1998. Macrophages and inflammatory mediators in tissue injury. *Annu. Rev. Pharmacol.* 35:655-677.
- Lee, H.N., D.Y. Lim, S.S. Lim, J.D. Kim and J.H.Y. Park. 2011. Anti-inflammatory effect of ethanol extract from *Eupatorium japonicum*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43:65-71.
- Makins, R. and A. Ballinger. 2003. Gastrointestinal side effects of drugs. *Expert Opin. Drug Saf.* 2:421-429.
- Mariathasan, S. and D.M. Monack. 2007. Inflammasome adaptors and sensors: intracellular regulators of infection and inflammation. *Nature Reviews. Immunology.* 7:31-40.
- Matsumoto, K., Y. Watanabe and S.I. Yokoyama. 2007. Okara, soybean residue, prevents obesity in a diet-induced murine obesity model. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71:720-727.
- Moynagh, P.N. 2005. The NF-kappaB pathway. *J. Cell Sci.* 118:4589-4592.
- Namkoong S., S.A. Jang, E.H. Sohn, J.P. Bak, E. Sohn, H.J. Koo, W.J. Yoon, J.E. Kwon, Y.J. Jeong, X. Meng, H.S. Han and S.C. Kang. 2015. Comparative study of *Litsea japonica* leaf and fruit extract on the anti-inflammatory effects. *Korean J. Plant Res.* 28(2):145-152.
- Park, S.M., S.H. Byun, Y.W. Kim, I.J. Cho and S.C. Kim. 2012. Inhibitory effect of Mori Folium ethanol extract on pro-inflammatory mediator in lipopolysaccharide-activated RAW264.7 cells. *Kor. J. Herbology* 27(3):31-38.
- Shi, M., Y. Yang, D. Guan, Y. Zhang and Z. Zhang. 2012. Bioactivity of the crude polysaccharides from fermented soybean curd residue by *Flammulina velutipes*. *Carbohydr. Polym.* 89:1268-1276.
- Smith, W.L., E.A. Meade and E.L. DeWitt. 1994. Pharmacology of prostaglandin endoperoxide synthase isozymes 1 and 2. *Ann. NY. Acad. Sci.* 714:136-142.
- Wu, G. and S.M. Morris. 1998. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem. J.* 336:1-17.
- Yun, J.W. 2010. Possible anti-obesity therapeutics from nature. A review. *Phytochemistry* 71:1625-1641.
- Zedler, S. and E. Faist. 2006. The impact of endogenous triggers on trauma-associated inflammation. *Curr. Opin. Crit. Care.* 12:595-601.

(Received 9 January 2018 ; Revised 9 February 2018 ; Accepted 27 March 2018)