

유색미 겨 아라비녹실레인과 지구성 운동트레이닝이 LPS 처치된 흰쥐의 TLR4 Signaling 단백질 발현에 미치는 영향

†손 희 정

한국체육대학교 운동생리연구실

Arabinoxylan Rice Bran and Endurance Exercise Training on the TLR4 Signaling-mediated Protein Expression in LPS-treated Rats

†Hee-Jeong Son

Exercise Physiology, Korea National Sport University, Seoul 138-050, Korea

Abstract

The purpose of this study is to investigate the effects of arabinoxylan rice bran and endurance exercise training on TLR4 mediated protein expression in LPS-treated rats. The results showed that TLR4 as an important protein in the inflammatory response against lipopolysaccharide was shown to be significantly lower in both arabinoxylan supplement with exercise group and exercise group, thus the arabinoxylan rice bran had a higher inhibitory activity than arabinoxylan supplement group. However, NF- κ B and MyD88 protein expression was not changed in arabinoxylan supplement with exercise training group, whereas NF- κ B significantly decreased in 4 weeks of exercise training group. These results suggest that the supplement of arabinoxylan rice bran with exercise is likely to contribute to inflammation response and the arabinoxylan rice bran can be used as a possible safe alternative to the immunotherapeutic intervention.

Key words: arabinoxylan, TLR4, inflammatory response

서 론

최근 체내 항상성 능력을 강화시키고 면역체계 조절 효과를 나타내는 천연식품자원의 생리활성 기능이 구체적으로 밝혀지면서 질병예방 및 치료에 효과가 있는 기능성 식품소재에 대한 관심이 높아지고 있다. 지금까지 알려진 천연물 소재로는 차가버섯, 상황버섯 및 아가리쿠스 버섯을 비롯한 버섯류, 쌀겨, 콩, 홍삼제품 등 다양한 소재들이 개발되었다(Cha 등 2005; Kim 등 2007; Park 등 2007). 특히 고등균류에서 단백당체, 다당류 및 폴리페놀류 등이 효능면에서 뛰어난 성분이 많은 것으로 밝혀졌으며, 면역활성에 관여하는 다당류는 버섯이나 효모 세포벽의 β -glucan 성분으로 알려져 있다(Tao 등 2006). 그러나 대부분 합성화합물의 부작용의 문제를

가지고 있어 안전한 천연 식품소재에 함유된 기능성물질에 대한 탐색이 요구된다(Kim & Han 2011).

본 연구에서 사용된 아라비녹실레인(arabinoxylan)이라는 화합물은 쌀을 도정하여 생기는 부산물인 쌀겨의 수용성 식이섬유 성분에 표고버섯균사체에서 분리한 효소를 작용시켜 생성된 식물성 다당류이다. 이 식품소재는 쌀겨에서 추출한 헤미셀룰로스를 특수 효소로 분해하여 만든 식물성 생리활성 영양소로서 기능성성분으로 비타민 B, 감마올리자놀, 토코페롤, 식이섬유 등의 항산화 물질들이 포함되어 있다(Cicero & Gaddi 2001; Ghoneum & Matsuura 2004; Maeda 등 2004; Choi 등 2010). 특히 일반미에 비해 유색미들은 항산화 활성이 더 우수한 것으로 보고되고 있다(Ramarathnam 등 1988; Nam & Kang 1997; Shin & Jeong 2011).

† Corresponding author: Hee-Jeong Son, Exercise Physiology, Korea National Sport University, Seoul 138-050, Korea. Tel: +82-2-410-6700, E-mail: son1106@hanmail.net

아라비녹실레인의 생리기능은식이섬유로서의 기능뿐만 아니라, 암세포를 파괴하는 항암 효과, 면역 증강 활성, 항균 활성, 혈중 콜레스테롤 억제, 당뇨병 예방 효과가 있는 것으로 밝혀지면서 질병 예방과 치료에 유용한 생리활성 물질로서 더욱 관심을 모으고 있다(Xu 등 2001; Kim 등 2002; Ghoneum & Abedi 2004; Kim HA 2007).

그러나 현재 아라비녹실레인 성분의 생리활성 효과에 대한 연구자료는 매우 부족하며, 특히 조직 내에서 신호전달 관련 단백질의 발현 양상을 분석한 연구자료는 거의 없는 실정이다. 최근 선행연구 결과(Son 등 2012)를 통해 아라비녹실레인 성분은 지구성 운동과 복합처치할 때 혈액에서의 염증반응을 효과적으로 억제시키는 것으로 나타났으며, 이러한 상승 효과에 대해 보다 구체적인 근거를 밝히기 위한 후속연구의 필요성을 제기되었다. 이와 같이 선행연구에서 아라비녹실레인의 생리활성기능이 확인되고 있으나, 혈액지표나 특정 유전자의 전사는 실제 단백질 합성과의 차이가 있을 수 있으므로, 조직에서 염증반응의 중심적인 역할을 하는 신호전달 단백질의 변화를 검증해볼 필요가 있다. 또한 지금까지 아라비녹실레인 관련 선행연구들은 주로 단독처치에 의한 효과만을 보고함으로써 운동과의 복합처치로 인한 상승 효과에 대해서는 명확히 확인되지 않은 실정이다.

인체의 건강을 유지하는 데에 중강도의 유산소 운동은 에너지 대사를 개선하여 염증 관련 유전자 발현을 감소시킴으로써 대사적 불균형을 개선하는 효과가 있는 것으로 잘 알려져 있다(Nieman 등 1995; Pizza 등 1995; Trayhum & Beattie 2001; Steensberg 등 2002; Woods JA 2005). 이러한 점을 감안하여 이 연구에서는 유색미 겨 추출물 섭취와 지구성 운동의 복합처치가 염증활성 억제에 어떠한 효과가 나타나는 지를 알아봄으로써 향후 기능성 식품 연구분야에서 질병 예방과 치료에 있어 유색미 겨 추출물의 활용을 위한 자료를 제시하고자 하였다.

종합하면, 이 연구에서는 유색미 겨에서 유도된 아라비녹실레인의 생체기능성 효과를 확인하기 위한 목적으로 4주간 흰쥐에게 시료를 투여하고, 지구성 운동을 복합 처치한 후 LPS(lipopolysaccharide) 자극에 따른 TLR4 신호전달 관련 단백질 발현을 분석하였다.

연구방법

1. 시험시료

시험시료는 ORIGIN 생화학연구소의 발효고대미 시판원료를 제공받아 사용하였다. 이 원료는 ORIGIN 생화학연구소의 산학공동 연구에 의해 개발된 식품으로 흑미(쌀겨)를 cellulase 반응과 효모균에 의한 발효법에 의해 생산되는 쌀겨 수용성

헤미셀룰로스(hemicellulose)이다. 주성분은 아라비녹실레인(10 mg/1.3 g)이며, 일반적인 쌀과 비교해서 식물섬유(hemicellulose)의 함유량이 약 30% 높고, Anthocyanin glucoside(12 mg/1.3 g)를 함유하고 있는 것이 특징이다.

2. 실험동물의 관리 및 시료 투여 방법

이 연구에서 사용된 실험동물은 Sprague-Dawley 12주령 쥐(Samtako, Kyung gi-do, Korea)로서 7일 동안 적응시킨 후, 각각 8그룹(① ARA(n=8):시료투여군, ② EX(n=8):운동군, ③ ARA+EX(n=8): 시료투여+운동군, ④ CON(n=8):대조군, ⑤ CON-LPS(n=8):LPS처치군, ⑥ ARA+LPS(n=8):시료투여+LPS처치군, ⑦ EX+LPS(n=8):운동+LPS처치군, ⑧ ARA+EX+LPS(n=8):시료투여+운동+LPS처치군)으로 구분하고, 각 군은 다음과 같이 8마리씩 총 64마리를 실험에 사용하였다.

실험동물의 관리는 각 그룹 당 4마리씩 하나의 cage에 넣어 사육하였으며, 온도(22±2℃), 습도(50~60%), 조명(12/12시간; light-dark cycle)을 유지하였다. 실험동물을 위한 식이 조성 성분은 탄수화물 67.5%, 지방 11.7%, 단백질 20.8% (Samtaco, Korea)이며, 실험 시료는 존대를 이용하여 유색미 겨에서 유도된 arabinoxylan 추출물을 4주간 매일 PBS 1 mL에 희석하여 200 mg/kg씩 존대를 이용하여 구강 투여하였다.

3. 운동 트레이닝 방법

운동집단과 시료투여운동집단의 실험동물은 트레드밀 운동트레이닝을 실시하였다. 운동이 실시되는 일주일 전, 하루에 15분씩 2회의 운동 적응기간을 거친 후, 4주간 VO₂max의 75% (28 m/sec)의 강도로 트레드밀 운동을 매일 약 60분간 시행하였다. 운동 중 모든 동물에 대한 실험 조건이 최대한 동일하게 통제되도록 숙련된 동일한 실험자에 의해 관리되었다.

4. 실험동물 해부와 혈액 채취

실험동물은 시료 투여기간 종료 후에 에테르 마취 후 복부 대동맥에서 채혈하였으며, 샘플은 실온에서 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하고, 분리된 혈청을 혈청분리관에 0.1 mL를 -70℃에 보관하였으며, 전혈은 충분히 mixing 후 냉장보관하여 실험에 사용하였다.

5. LPS 처치와 실험동물 희생과 조직 샘플링

실험동물에 대한 조직 샘플링은 운동트레이닝이 끝난 24시간 후에 시행되었으며, 복강 내에 내독소(5 mg/kg)를 투여하였다. 4시간 경과 후에 실험에 사용되는 모든 쥐들은 훈련 전·후 sodium pentobarbital(6 mg/kg)을 복강 내로 주입시켜 마취시킨 후 가자미근(soleus muscle)의 표본을 얻어 액화 질소에 급속 냉동시킨 후 분석이 이루어질 때까지 -80℃에서

보관하였다.

6. NF-kappaB 분석을 위한 근핵의 추출

근조직의 세포질과 핵을 분리하기 위해 Nuclear extraction kit(Millipore, CA, USA)를 이용하였다. 근조직을 ice-cold PBS로 세척한 뒤 4°C에서 완충액 A [HEPES-KOH 10 mmol/L(pH 7.9 at 4°C), MgCl₂ 1.5 mmol/L, KCl 10 mmol/L, DTT 0.5 mmol/L, PMSF 0.2 mmol/L] 400 mL에서 용해시킨 후, 얼음에서 incubation하고, 15,000rpm으로 5분간 원심분리하였다. 세포질 분획을 얻은 후 완충액 B [HEPES-KOH 20 mmol/L(pH 7.9 at 4°C), glycerol 25%, MgCl₂ 1.5 mmol/L, NaCl 420 mmol/L, EDTA, 0.2 mmol/L, DTT 0.5 mmol/L, PMSF 0.2 mmol/L]와 함께 4°C에서 20분 동안 incubation한 후 위와 동일한 방법으로 5분간 원심분리하였다.

7. SDS-PAGE

정량된 sample은 2X SDS loading buffer(60 mM tris pH 6.8, 25% glycerol, 2% SDS, 14.4 mM 2-mercaptoethanol, 0.1% Bromophenol Blue)를 혼합한 후 100°C에 10분간 끓여 단백질을 denaturation시킨 다음 얼음위에서 10분간 식힌 후, 다시 원심분리(15,000 rpm, 20분간, 4°C)하였다. 그 후, 12% separating gel과 5% stacking gel을 조성하여 사용하였으며, 각 샘플을 Mini-protein II dual-slab apparatus(Bio-Rad, CA, USA)에 준비된 stacking gel의 well에 분주하여 80 Volt에서 샘플이 바닥에 닿을 때까지 2시간 동안 전기영동을 수행하였다.

8. Western blot analysis

PVDF membrane(Bio-rad, USA)과 Transfer buffer(190 mM glycine, 50 mM Tris-base, 0.05% SDS, 20% methanol)로 3M paper를 차례로 겹쳐 Mini trans-blot cell(Bio-Rad, CA, USA)에 장치한 후 80 volt로 2시간 동안 전사하여 membrane을 rocker platform위에서 90분 동안 5% w/v BSA 용액으로 Blocking을 수행하였다. 1차 항체인 anti-TLR4(#sc-293072, Santa Cruz, CAL, USA), anti-MyD88(#4283, Cell Signaling, USA), anti-Nf-κBp65(#3034, Cell Signaling, USA), anti-β-actin(#sc-47778, Santa Cruz, CAL, USA), anti-H2B(#12364S, Cell Signaling, USA)를 1:1,000 농도의 blocking 용액으로 12시간 동안 incubation시켰다. 2차 항체(horseradish peroxidase-conjugated goat anti-rabbit 65-6120, ZYMED, CA, USA; horseradish peroxidase-conjugated rabbit anti-goat 81-1620, ZYMED, CA, USA; horseradish peroxidase-conjugated goat anti-mouse 2005, Santa Cruz, CAL, USA)를 Blocking 용액으로 1:5,000 농도로 희석시켜 90분 동안 처리한 후 TBS-T 용액으로 10분씩 5차례 행구고, 마지막 단계로 WBLR solution에 membrane을 넣고 1분간 발색하여 이미지

분석 시스템(Molecular Imager ChemiDoc XRS System, Bio-Rad, USA)을 이용하여 스캔한 후 Quantity One 1-D Analysis Software (Bio-Rad, USA)로 각각의 단백질량을 산출하였다.

9. 자료 분석

이 연구에서 획득한 자료는 SPSS 12.0 통계패키지를 이용하여 평균 및 표준편차를 산출하였다. 그룹 간 효과를 관찰하기 위하여 One-way ANOVA를 적용하였으며, 총 8개 집단간의 LSD의 사후검정을 시행하였다. 이 연구의 가설의 수락수준은 $\alpha=.05$ 로 설정하여 유의성을 검증하였다.

결 과

1. TLR4 protein 변화

4주간의 유색미 겨 추출물 아라비녹실레인 투여와 지구성 운동트레이닝에 따른 TLR4 protein 발현 변화는 Fig. 1과 같다. 염증반응은 실험동물의 복강 내 LPS(5 mg/kg) 처치를 통해 유도하였다.

4주간의 아라비녹실레인 투여 및 지구성 운동트레이닝을 실시한 후에 TLR4 protein 변화를 분석한 연구결과에서 유의한 차이가 나타났다($p<.05$). 각 집단간의 TLR4 protein을 분석한 결과를 살펴보면 시료만을 투여한 집단에서 TLR4의 발현이 감소되는 경향이 있었으나, 유의한 차이는 없었으며, LPS로 자극된 TLR4 분석 결과에서도 시료투여군은 유의한 차이가 나타나지 않았다. 반면, 시료투여운동군($p=0.032$)은 LPS로 자극된 TLR4 protein의 분석 결과에서 단백질 활성이 유의하게 낮은 것으로 나타남으로써 아라비녹실레인 투여와 운동의 복합처치에 대한 상승효과를 확인할 수 있었다. 한편, 4주간의 지구성 운동만을 시행한 운동군($p=0.003$)에서도 통제군에 비해 유의한 차이가 나타났다.

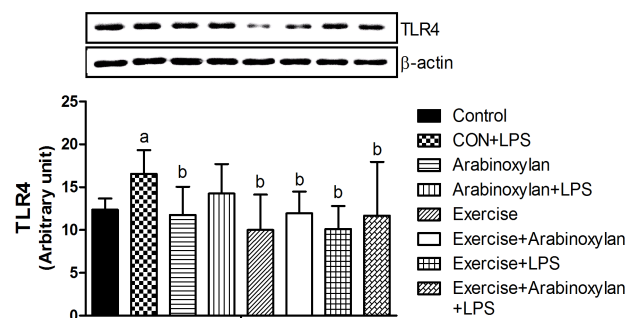


Fig. 1. Effects of the arabinoxylan (200 mg/kg) and exercise training on TLR4 protein in LPS-stimulated rats. a: significance from Control at $p<.05$, b: significance from CON+LPS at $p<.05$ as determined by LSD multiple range test.

2. MyD88 protein 변화

4주간의 아라비녹실레인 투여와 지구성 운동트레이닝 후에 MyD88 protein 발현은 시료투여군과 운동군 및 운동투여군에서 LPS(5 mg/kg) 자극된 염증반응에 의해 다소 감소하는 경향은 있었으나, 유의한 차이는 나타나지 않았다(Fig. 2).

3. NF- κ B protein의 변화

4주간의 아라비녹실레인 투여 및 지구성 운동트레이닝을 실시한 후에 NF- κ B protein의 변화를 분석한 연구결과에서 유의한 차이가 나타났다($p < 0.05$). 4주간의 아라비녹실레인 투여와 지구성 운동 트레이닝 후에 NF- κ B protein 발현은 LPS(5 mg/kg)로 자극에 의해 운동군에서 가장 낮게 나타났으며 ($p = 0.001$), 시료투여운동군에서는 낮은 비교적 활성 수준을 보였으나, 통계적으로 유의하지 않았다(Fig. 3).

고 찰

본 연구에서 시도한 유색미 겨 추출물은 아라비녹실레인

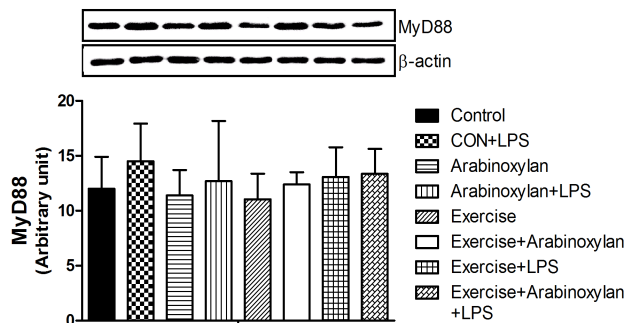


Fig. 2. Effects of the arabinoxylan (200 mg/kg) and exercise training on MyD88 protein in LPS-stimulated rats.

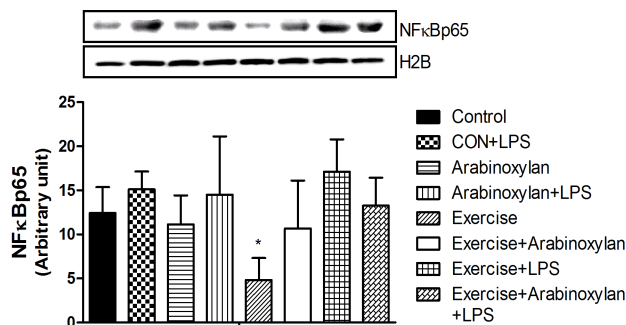


Fig. 3. Effects of the arabinoxylan (200 mg/kg) and exercise training on NF- κ B protein in LPS-stimulated rats. *: Significance from the other groups at $p < 0.05$ as determined by LSD multiple range test.

을 주성분으로 하는 새로운 천연식품소재로서의 가능성이 제기되고 있다. 지금까지 유색미에 함유된 식이섬유의 면역 조절작용과 강력한 항산화 작용에 대한 효과는 이미 여러 *in vitro* 연구결과들(Ghoneum & Jewett 2000; Chio 등 2004)을 통해 확인되었으며, 이 연구에서 시도한 근육세포 내에서 생리활성기능에 관련된 신호전달체계에 대한 검증은 기능성식품 연구분야에서 의미있는 자료로서 제시될 수 있다. 특히 이 연구의 근육세포에서 분석한 TLR4 신호전달 단백질들은 TLR4, MyD88, NF- κ B이며, 유색미 겨 추출물과 관련 연구로서는 처음 제시하는 지표이다.

이 연구과정에서 염증반응의 대표적인 지표들로 TLR4, NF- κ B, MyD88를 분석한 결과, 혈액에서 나타난 유색미 겨 추출물 투여에 의한 염증 억제효과와 근육 조직의 TLR4 관련 신호전달 단백질 발현에서 일치하는 결과를 확인할 수 없었다.

TLR4 신호전달체계는 MyD88 의존형과 MyD88 비의존형으로 나뉘어져 있으며, lipopolysaccharide에 반응하여 전신의 염증반응을 조절하며, 최종적으로 NF- κ B를 활성화시켜 염증반응에 관여하게 된다. 실제 LPS로 염증반응을 자극시킨 결과에서 TLR4 protein의 활성수준은 아라비녹실레인 투여와 지구성 운동을 복합처치한 집단($p = 0.032$)에서 유의하게 낮게 나타났으나, 운동군($p = 0.003$)에서는 오히려 더 낮은 반응을 보였다.

특히, 이 연구결과에서 아라비녹실레인 투여와 지구성 운동을 병행한 집단의 경우, 염증반응이 유의하게 낮게 나타난 것에 반해, 아라비녹실레인만을 단독투여한 집단의 경우, 유의한 나타나지 않은 점은 연구자가 수행한 선행연구(Son 등 2012)에서 아라비녹실레인 투여집단의 IL-6와 TNF- α 의 활성이 가장 낮게 나타난 결과와는 상반되는 결과이다. 이러한 결과에 대해서는 선행연구들에서 나타난 염증반응의 결과를 감안할 때 시료농도의 조건을 달리하여 아라비녹실레인의 기능성 검증을 다시 확인할 필요가 있으며, 향후 임상연구를 시도하여 천연기능성 소재로서의 가능성을 재검토해보아야 할 것이다.

한편, 연구결과에서 MyD88 protein 발현의 경우, TLR4에서 나타난 실험결과와 유사하게 나타나지 않았는데, 이는 TLR4 신호전달 기전이 TIR domain-containing adaptor인 MyD88 의존형 전달기전과 MyD88 비의존형 전달기전 두 가지로 분류되므로(Akira 등 2001), 이 연구에서는 TLR4가 MyD88 protein에 의해 활성화되지 않았을 가능성이 제기된다. 이에 추가적으로 MyD88 비의존형인 TRIF와 RIP-1을 통한 신호전달과정이 관여되는가에 대한 부분도 고려해볼 필요가 있다.

MyD88 protein은 TLRs를 통한 염증성 사이토카인의 유발을 위한 필수적인 Toll/IL-1 domain-containing adaptor이며, 자

극을 받은 상태에서 Interleukin-1 receptor-associated kinase-4 (IRAK-4)는 IRAK-1을 인산화시킨다. IRAK-1은 TRAF6과 함께 receptor에서 분리되고, TAK1이 활성화된다. 활성화된 TAK1은 Mitogen-activated kinase(MAP kinase)를 인산화시켜 전사인자인 NF- κ B를 활성화시킨다. NF- κ B는 근육 내에서 근 단백질 분해에 관여하며, 근육량 감소를 유발하는 것으로 보고되었다(Hunter 등 2002; Mourkioti & Rosental 2008). 또한 NF- κ B는 다양한 염증성 인자들의 발현을 조절하여 각종 대사성질환에 매우 중요한 의미를 갖는 지표이다. 이 연구의 결과에서 아라비녹실레인과는 관련 없이 지구성 운동을 수행한 집단에서만 NF- κ B의 활성이 유의하게 낮은 것으로 나타나 TLR4 protein 발현 양상과는 차이가 있었다.

종합하면, 이 연구에서는 아라비녹실레인 투여와 지구성 운동 트레이닝에 대한 TLR4 신호전달 관련 단백질의 분석결과는 전반적으로 일치되게 나타내지 않았다. 또한 NF- κ B를 분석한 결과에서 LPS 유도 후에 4주간 아라비녹실레인만을 투여한 집단과 지구성운동과 시료 섭취를 병행한 집단보다 지구성 운동만을 단독 시행한 집단에서 염증반응이 가장 낮게 나타난 점에 대해서는 운동의 효과가 가장 높은 것으로 해석하기 보다는 후속연구에서 재확인이 요구되는 부분이다.

이 연구에서 시도한 유색미 겨 아라비녹실레인 투여와 운동과의 복합처치 효과에 대한 비교는 지금까지 천연물 연구에서 폭넓게 시도되고 있지 않아, 이 연구의 자료는 천연물의 기능성 효과를 판단하고 적용하는 데에 기초자료로서 중요한 의미를 지니는 것으로 기대한다.

결론

지금까지 유색미 겨 추출물에 대한 선행 연구자료들은 항염증작용, 항산화, 혈당조절 등에 대해 구체적인 가능성을 보고하고 있으며, 유색미의 이용가치를 증가시키고, 천연물의 기능성식품 개발에 있어 의미 있게 사용되고 있다.

이 연구에서는 아라비녹실레인 투여와 지구성운동 트레이닝에 대한 TLR4 신호전달 관련 단백질의 분석결과에서 TLR4 protein의 활성수준은 아라비녹실레인 투여와 지구성 운동을 복합처치한 집단($p=0.032$)에서 유의하게 낮게 나타났으며, MyD88 protein 발현의 경우, TLR4에서 나타난 연구결과와 유사하게 나타나지 않았다. NF- κ B 단백질 발현은 4주간 아라비녹실레인만을 투여한 집단과 지구성운동과 시료 섭취를 병행한 집단보다 지구성 운동만을 단독 시행한 집단에서 염증반응이 가장 낮게 나타났다.

이상의 결과에서 유색미 겨에서 유도된 아라비녹실레인은 단독투여에 대한 효과는 나타나지 않았으나, 운동과 복합처치될 때 TLR4 신호전달 단백질 발현을 억제하는 상승효과를

나타냄으로써 염증억제를 위한 기능성 천연물로서의 가능성을 확인하였다. 따라서 유색미 겨 추출물 아라비녹실레인의 생리활성 기능을 다각적으로 탐색하는 것은 국내에서 제대로 활용되고 있지 못한 쌀겨의 가치를 높이고, 식품의 안정성과 환경적 측면에서 적합한 기능성 식품개발의 새로운 방안으로 제시될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문 또는 저서는 2012년 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2012S1A5B5A07037776).

References

- Akira S, Takeda K, Kaisho T. 2001. Toll-like receptors: Critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol* 2:675-80
- Cha JY, Jun BS, Lee CH, Yoo KS, Moon JC, Cho YS. 2005. Hypoglycemia and antioxidative effects of fermented chagamu mushroom on streptozotocin induced diabetic rats. *J Life Sci* 15:809-818
- Choi HI, Lee BK, Kim SJ. 2010. Study on the nutritional components of non-fermented rice bran and fermented rice bran. *Korean J Food & Nutr* 23:1-7
- Cicero AF, Gaddi A. 2001. Rice bran oil and γ -oryzanol in the treatment of hyperlipoproteinemias and other conditions. *Phytother Res* 15:277-289
- Ghoneum M, Jewett A. 2000. Production of tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma from human peripheral blood lymphocytes by MGN-3, a modified arabinoxylan from rice bran, and its synergy with interleukin-2 *in vitro*. *Cancer Detect Prev* 24:314-24.
- Ghoneum M, Matsuura M. 2004. Augmentation of macrophage phagocytosis by modified arabinoxylan rice bran (MGN-3/biobran). *Int J Immunopathol Pharmacol* 17:283-92
- Hunter RB, Stevenson E, Koncarevic A, Mitchell-Felton H, Essig DA, Kandarian SC. 2002. Activation of an alternative NF-kappaB pathway in skeletal muscle during disuse atrophy. *FASEB J* 16:529-538
- Kang MY, Nam YJ, Nam SH. 2005. Screening of antioxidation-related functional components in brans of the pigmented rices. *J Korean Soc Apple Biol Chem* 48:233-239
- Kim D, Han GD. 2011. Ameliorating effects of fermented rice

- bran extract on oxidative stress induced by high glucose and hydrogen peroxide in 3T3-L1 adipocytes. *Plant Foods Hum Nutr* 66:285-290
- Kim EO, Oh JH, Lee KT, Im JG, Kim SS, Suh HS, Choi SW. 2008. Chemical compositions and antioxidant activity of the colored rice cultivars. *Korean J Food Preserv* 15:118-124
- Kim HA. 2007. Elucidation of anti-diabetic effect of *Agricus blazeimurill* in streptozotocin induced diabetic rats and patient with type 2 diabete millitus. MS Thesis, Inje Univ. Busan. Korea
- Kim KM, Yu KW, Kang DH, Suh HJ. 2002. Anti-stress and anti-fatigue effect of fermented rice bran. *Phytother Res* 169: 700-702
- Maeda H, Ichihashi K, Fujii T, Omura K, Zhu X, Anazawa M, Tazawa K. 2004. Oral administration of hydrolyzed rice bran prevents the common cold syndrome in the elderly based on its immunomodulatory action. *Biofactors* 21:185-187
- McFarlin BK, Flynn MG, Phillips MD, Stewart LK, Timmerman KL. 2005. Chronic resistance exercise training improves natural killer cell activity in older women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 60:1315-1318
- Mourkioti F, Rosenthal N. 2008. NF-kappaB signaling in skeletal muscle: Prospects for intervention in muscle diseases. *J Mol Med* 86:747-59
- Nam SH, Kang MY. 1997. *In vitro* inhibitory effect of colored rice bran extracts against carcinogenicity. *Agri Chem Biotechnol* 40:307-312
- Nieman DC, Simandle S, Henson DA. 1995. Lymphocyte proliferative response to 2.5 hours of running. *J Sports Med* 16: 404-409
- Park KJ, Oh YJ, Lee SY, Kim HS, Ha HC. 2007. Anti-diabetic effect of crude polysaccharides from *Grifola frondosa* in KK-Ay diabetic mouse and 3T3-L1. *Adipocyte* 39:330-335
- Pizza FX, Mitchell JB, Davis BH, Starling RD, Holtz RW, Bigelow N. 1995. Exercise-induced muscle damage: Effect on circulating leukocyte and lymphocyte subsets. *Med Sci Sports Exerc* 27:363-370
- Ramarathnam N, Osawa T, Namiki M, Kawakishi S. 1988. Chemical studies on novel rice hull antioxydants isolation, fractionation, and partial characterization. *J Agric Food Chem* 36:723-727
- Shin SH, Chung NJ. 2011. Variation of antioxidant and anticancer activities of hull and bran extracts in different colored rices. *Kor J Breed Sci* 43:218-224
- Son HJ, Kim HJ, Chae JH, Kwon HT, Yeo HS, Eo SJ, Leem YH, Kim HJ, Kim CK. 2012. Effects of arabinoxylan rice bran and exercise training on immune function and inflammation response in LPS-stimulated rats. *Journal of Applied Biological Chemistry* 55:41-46
- Steensberg A, Morrow J, Toft AD, Bruunsgaard H, Pedersen BK. 2002. Prolonged exercise, lymphocyte apoptosis and F2-isoprostanes. *Eur J Appl Physiol* 87:38-42
- Tao Y, Zhang L, Cheung PC. 2006. Physicochemical properties and antitumor activities of water-soluble native and sulfated hyperbranched mushroom polysaccharides. *Carbohydr Res* 341:2261-2269
- Trayhurn P, Beattie JH. 2001. Physiological role of adipose tissue: White adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc Nutr Soc* 60:329-339
- Woods JA. 2005. Physical activity, exercise, and immunofunction. *Brain Behav Immun* 19:369-370
- Xu Z, Hua N, Godber JS. 2001. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols and γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride. *J Agric Food Chem* 49:2077-2081

Received 29 September, 2014

Revised 1 December, 2014

Accepted 5 December, 2014