

붉은덕다리버섯 균사체로 발효한 홍삼 배양액의 cell migration 및 항염 효능에 관한 연구

오 성 화 · 최 수 연 · 이 누 림 · 이 정 노 · 김 동 석* · 이 상 화** · 박 성 민[†]

(주)코씨드바이오팜, *서원대학교 의식산업학과, **서원대학교 친환경 바이오 소재 및 식품 센터
(2014년 6월 5일 접수, 2014년 6월 13일 수정, 2014년 8월 7일 채택)

Cell migration and Anti-inflammatory Effect of Red Ginseng Extracts Fermented with *Laetiporus Sulphureus*

Seong-Hwa Oh, Soo-Yeon Choi, Nu Rim Lee, Jung No Lee, Dong-Seok Kim, Sang-Hwa Lee, and Sung-Min Park[†]

R&D Center, CoSeedBioPharm Corporation, 68, Osongsaeangmyeong 2-ro, Osong-eup,
Heungdeok-gu, Cheongju-si 363-951, Korea

Department of Food Service Industry, Seowon University, Cheongju-si 361-742, Korea

Department of Food Service Industry and Bio Organic Material & Food Center, Seowon University,
Cheongju-si 361-742, Korea

(Received June 5, 2014; Revised June 13, 2014; Accepted August 7, 2014)

요 약: 홍삼(Red Ginseng; RG)은 인삼보다 더 높은 생체 흡수율과 다양한 약리효과를 갖는 특이한 진세노사이드(Rg2, Rg3)를 함유하고 있다. 따라서 오랫동안 많은 사람들의 건강을 위해 이용되어 왔다. 또한 발효는 유효한 생리활성을 갖는 저분자의 물질들을 생성하기 때문에 많은 연구자들이 생물학적 활성에 대해 오랫동안 연구해오고 있다. 본 연구에서는 홍삼을 붉은덕다리버섯 균사체로 7일 동안 발효하였다. HPLC 분석 결과 진세노사이드 Rg1, Re 및 Rb2가 각각 0.24, 0.25, 0.16 mg/g에서 0.12, 0.1, 0.03 mg/g으로 함량 감소를 확인하였고, 홍삼 붉은덕다리 균사체배양액(Fermented Red Ginseng; FRG)의 항염, 세포 이동, 항산화, 콜라겐 타입 I 합성과 MMP-1 억제효능에 대한 생물학적 효능을 확인하였다. 그 결과, FRG는 RG보다 항염 및 cell migration 촉진효과가 더 우수하였다. FRG는 LPS로 유도된 RAW 264.7 대식세포의 NO 생성을 억제하였으며, iNOS와 IL-6의 발현을 mRNA 수준에서 억제하였다. 이 결과로 FRG는 새로운 항염소재로서 제안이 가능하다고 사료된다.

Abstract: Red ginseng (RG) contains specific ginsenosides (Rg2, Rg3) which show various pharmacological effects and absorption rate in the body better than panax ginseng. Therefore many people have been used it for health for a long time. Furthermore, many researchers have been studying its biological activities for a long times because fermentation generates lots of beneficial small molecules good for health. In this study, we fermented red ginseng with mycelium of *Laetiporus sulphures* var. *miniatus* for 7 days. As a result, we found that three ginsenosides Rg1, Re and Rb2 were decreased from 0.24, 0.25, 0.16 mg/g to 0.12, 0.1, 0.03 mg/g respectively HPLC analysis. In addition, we studied biological activities of fermented red ginseng (FRG) about skin ageing such as anti-inflammation, cell migration, anti-oxidation, collagen type 1 synthesis, and MMP-1 inhibition activities. As a result, FRG were shown higher anti-inflammatory

[†] 주 저자 (e-mail: smp@coseed.co.kr)

and cell migration promoting activities than RG. FRG inhibited production of nitric oxide (NO) and mRNA expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and decreased interleukin (IL)-6 induced by LPS stimulation in RAW 264.7 cells. In conclusion, this study suggest that FRG could be a potential source as a new natural anti-inflammatory agent.

Keywords: *Laetiporus sulphureus* var. *miniatus*, anti-inflammatory, saponin, β -glucan, Fermented red ginseng

1. 서 론

인삼은 훌륭한 한약재로 손꼽히며 많은 처방에서 사용되고 있다. 하지만 인삼의 성분을 보존하면서 오랜 기간 보관이 쉽지 않은데 이를 보완한 것이 홍삼이다. 홍삼은 인삼을 증기로 찌서 건조시킨 것을 말하는데 인삼의 유효성분인 사포닌의 함량이 인삼보다 많은 것으로 알려져 있다[1,2]. 인삼의 유효성분은 식물체의 여러 사포닌 중 인삼사포닌만을 특별하게 구분하여 명명한 ‘ginsenoside’라 불리는 ‘인삼사포닌’이다. 사포닌의 화학구조는 크게 당부분(glycone)과 비당부분(aglycone)으로 구성된 배당체(glucoside)이다. 사포닌은 항산화 작용이 뛰어나며 면역력을 증강시키고 항염 효과 등이 있는 것으로 알려져 있다[3-6]. 이러한 배당체가 체내로 흡수될 때에는 장내 특유 미생물에 의해서 분해되어 흡수되는 것으로 알려져 있다[7,8]. 반면에 홍삼의 유효성분을 피부에 직접도포 시 분자량 등으로 인해 피부에 흡수가 어려운 단점이 있어, 이를 보완하기 위해 홍삼을 유산균, 효모, 고초균 등 미생물을 이용한 발효를 통해 흡수율증가와 효능증가에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다[9]. 이 중 발효물의 안전성과 기능성의 보안을 위해 버섯 균사체를 이용한 발효에 대한 연구가 활발하다[10-13]. 버섯 균사체의 배양물에 함유되어 있는 베타글루칸은 다당류의 일종으로 효모, 버섯 그리고 곡물의 껍질에 많이 포함되어 있고, 인간정상세포의 증식을 활성화하여 피부재생작용, 면역기능 활성화 등의 효능이 알려져 있으며 암세포의 증식과 재발에 대한 보고가 있다[14].

또한 면역세포 주위의 세포나 조직이 손상되었을 때 그 부위를 회복하고자 일련의 염증반응을 유도하는 현상을 면역반응이라고 한다. 면역학적 반응에는 T림프구, 대식세포가 관여하는데, 이 중 대식세포(macrophage)는 병원체에 반응을 하여 염증반응을 일으키며, tumor necrotic factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β)와 같은 염증유발인자

(pro-inflammatory cytokine)를 생성한다. 또한 inducible nitric oxide synthase (iNOS)에 의해서 생성되는 nitric oxide (NO)와 cyclooxygenase-2 (COX-2)에 의해서 생성되는 prostaglandin E₂ (PGE₂) 등의 염증유발인자들도 생성된다[15-16]. 이러한 염증 반응을 억제하기 위해 이들의 사이토카인을 억제하는 물질에 대한 연구가 피부과학 분야에서 활발히 진행되고 있으며, 콜라겐의 합성의 저하, 콜라겐 I 분해효소인 matrix metalloproteinase-1 (MMP-1)이 증가함에 따라 피부노화가 촉진되는 것으로 알려져 있어, 화장품 분야에서 많은 연구가 이루어지고 있다[18,19].

본 연구에서는 홍삼 추출물(red ginseng extract, RG)을 붉은덕다리버섯 균사체로 배양하여 얻어진 배양물(fermented red ginseng extract, FRG)의 항산화, cell migration, 면역학적 및 노화에 대한 연구를 수행하여 염증과 노화에 대한 피부생리활성을 확인하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. Materials

본 실험에서 사용된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS), penicillin-streptomycin (PS), phosphate buffered saline (PBS)는 WelGENE (Daegu, Korea)에서 구입하였고, Ham's Nutrient Mixture F-12 (F-12), Trypsin-EDTA는 Gibco (BRL, Rockville, MD)에서 구입하였다. Trypan blue, DPPH, crystal violet 및 LPS는 Sigma chemical Co. (St. Louis, MO)에서 구입하였다. NO Griess reagent system은 promega (Madison, WI)에서 구매하였고, MMP-1 Biotrak ELISA human MMP-1 nRPN2601은 (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK)에서 구매하였다. pro-collagen Type I C-peptide (PIP) EIA는 TaKaRa (Kanazawa, Japan)에서 구입하였고, Onestep RT-PCR Mastermix는 Geneall (Seoul, Korea)에서 구입하였다.

2.2. Red ginseng extracted and fermentated by *Laetiporus sulphureus*

홍삼미분말(한국인삼공사, Korea ginseng coporation)을 2% wt/vol의 비율로 정제수에 섞은 다음 121 °C, 1.5 기압, 15 min 동안 열을 가하여 추출하였다. 추출한 추출물은 400 mesh로 여과하였다.

붉은덕다리버섯 균사체(*Laetiporus sulphureus*, LS CS0218 KFCC 11494P)를 포함하는 약용버섯 균사체는 potato dextrose agar (PDA) 사면배지에서 25 °C, 7일간 배양한 후, 4 °C 냉장보관을 하였으며, 약 2개월 간격으로 계대배양을 하였다. 종균배양은 250 mL 플라스크 배양조건에 working vol. 50 mL 기준으로 glucose 3%, yeast extract 0.6%, polypeptone 0.2%, MgSO₄ · 7H₂O 0.05%, K₂HPO₄ 0.05%의 배지조성으로 25 °C, 150 rpm 7일간 배양하였다. 종균배양한 배양물을 대조군으로 설정하였다(LS). 홍삼추출물에 종균배양을 동시에 진행하여 홍삼배양액(FRG)을 얻었다.

2.3. Ginsenoside analysis

진세노사이드의 분석을 위해 사용된 기기는 waters HPCL (Waters, Milford, MA)이다. 분석 컬럼은 μ -Bondapak C18 (3.9 × 300 mm i.d., 10 μ m, Waters, Milford, MA)를 사용하였고, 주입량은 20 μ L, 유속은 203 nm로 설정하여 분석하였다. 이동상으로는 (A) water와, (B) acetonitrile을 초음파 세척기로 탈기하여 사용하였고, 기울기 용리조건(gradient system)을 이용하여 분석하였다.

2.4. Free radical scavenging activity (DPPH assay)

DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical)는 0.1 mM의 농도로 준비하였다. 각 시료는 농도별로 준비하고 양성대조군(positive control)으로 12.5 μ g/mL의 BHA를 사용하였다. 각 시료 20 μ L와 DPPH 180 μ L를 섞어 10 min간 상온에서 반응시켰다. 음성 대조군으로 DPPH 대신 MeOH를 처리하였다. 분광광도계 (MULTI SKAN, Thermo, Rockford, Illinois)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.5. Cell culture

사람 정상 섬유아세포(human dermal fibroblast neonatal, HDFn)는 ATCC에서 구매하여 DMEM과 F-12를

3 : 1의 비율로 혼합하여 배양하였다. 생쥐 대식세포 (mouse macrophage, RAW 264.7)는 LONZA (Hopkinton, MA)에서 구매하여 10% FBS가 첨가된 DMEM을 이용하여 배양하였다. 배양된 세포는 PBS 완충 용액(0.1 M phosphate saline buffer, pH 7.4)을 이용하여 3회 세척하였다. Trypsin-EDTA를 100 mm culture dish에 5 mL 처리하고, 37 °C에서 약 1 min 동안 배양시킨 후, 세포를 회수하였다. 10% FBS가 첨가된 배지 10 mL에 세포 부유액을 약 10 μ L를 취하여 동량의 trypan blue와 혼합한 후 약 10 μ L를 취하여 Hemocytometer에 200배의 배율로 세포 수를 계수하였다. 세포 수는 보통 10회를 반복하여 헤아린 다음 평균값으로 계산하였다. 각 세포들은 37 °C, 5% CO₂, full humidity 조건으로 배양하였다.

2.6. Migration assay

HDFn을 5 × 10⁴ cells/well 농도로 24-well plate 접종한 후 24 h 동안 37 °C 인큐베이터에서 안정화시켰다. 24 h 후에 1 mm plastic tip으로 well의 중간부분을 일자로 scratch 내고 PBS로 행군 다음 새 배지로 교환하였다. 각 농도별로 시료를 처리하고, 48 h 후에 0.2% crystal violet 시약으로 세포를 염색한 후 현미경 상에서 사진 촬영하였다.

2.7. Anti-inflammatory effect by RT-PCR

RAW 264.7를 2 × 10⁵ cells/well 농도로 6-well plate에 접종한 후 24 h 동안 37 °C 인큐베이터에서 안정화시켰다. 배지를 교환하고 내독소인 lipopolysaccharide (LPS)를 10 μ g/mL 농도로 처리와 동시에 시료를 처리하였다. 24 h 후에 상등액은 1.5 mL 튜브에 모으고, RNA isolation kit를 이용해 total RNA를 얻었다. Total RNA를 이용하여 염증 사이토카인의 발현량을 확인하기 위해서 RT-PCR을 수행하였다. GAPDH로 정량을 확인하였으며, Primer는 Table 1에 나타내었다. 상등액은 Griess reagent system (promega, Madison, WI) kit를 이용하여 540 nm의 흡광도에서 NO의 생성률을 측정하였다.

2.8. Anti-aging with collagen synthesis and MMP-1 inhibition activity

HDFn를 5 × 10⁴ cells/well 농도로 24-well plate에 접

Table 1. Composition of the Mobile Phase Employed in the Gradient HPLC System

Time (min)	Composition of mobile phase (%)	
	Water	Acetonitrile
0	80	20
5	80	20
25	72	28
35	67	33
40	59	41
45	20	80
47	20	80
50	80	20

Table 2. RT-PCR Primer Sequences and Product Size

Gene	Sequence	Product size (bp)	NCBI ID
COX-2	forward : CCGTGGGGAATGTATGAGCAC	356	NM_011198.3
	reverse : TTGGGCAGTCATCTGCTACGG		
IL-6	forward : AGCCAGAGTCCTCAGAGAGA	230	NM_031168.1
	reverse : TAACGCACTAGGTTTGCCGAG		
iNOS	forward : TAGTTTCCAGAAGCAGAATGTGACC	284	NM_010927.3
	reverse : CCAAGACTCTAAATCGGATCTCTCTC		
GAPDH	forward : TCAAGCTCATTTCCTGGTATGACA	223	NM_008084.2
	reverse : TGGGTGGTCCAGGGTTTCTTAC		

중한 후 24 h 동안 37 °C 인큐베이터에서 안정화 시켰다. PBS로 2번 헹군 뒤, FBS가 첨가되지 않은 배지로 교환 후 시료를 처리하였다. 24 h 후에 상층액을 이용하여 collagen synthesis를 측정하였다. pro-collagen Type I C-peptide (PIP) EIA (TaKaRa, Kanazawa, Japan) kit로 collagen synthesis를 정량하였고, 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

MMP-1 발현을 확인하기 위하여, HDFn를 5×10^4 cells/well 농도로 24-well plate에 접종한 후 24 h 동안 37 °C 인큐베이터에서 안정화 시켰다. PBS로 2번 헹군 뒤, PBS가 있는 상태에서 UVA를 6 J/cm^2 로 조사하였고, FBS가 첨가되지 않은 배지로 교환 후 시료를 처리하였다. 24 h 후에 상층액으로 BIOTRAK ELISA

human MMP-1 nRPN2601 (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK)을 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.9. Statistical analysis

모든 실험결과는 평균 표준편차로 표기하였으며, 각 군 간의 통계적 유의성 검증은 SPSS를 이용한 one-way ANOVA로 하였으며, *p* 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

Table 3. Ginsenoside Composition and Concentration of RG and FRG

Concentration (mg/g)	Rg1	Re	Rf	Rh1	Re2s	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Rg2s	Rg3r
RG	0.24	0.25	0.08	0.02	0.03	0.54	0.17	0.16	0.03	0.01	0.01
FRG	0.12	0.1	0.03	0.01	0.01	0.01	0.02	0.03	0.05	0.02	0.01

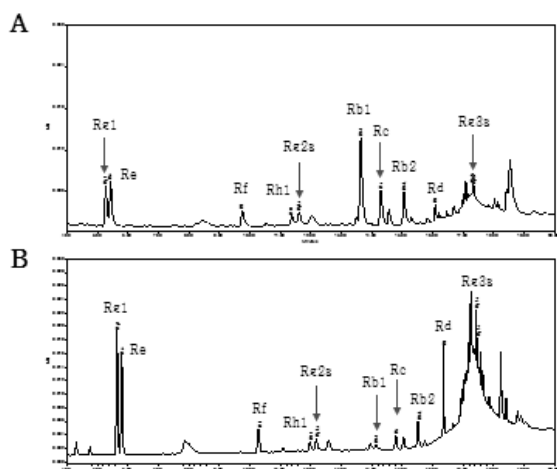


Figure 1. HPLC chromatograms of RG (A) and FRG (B).

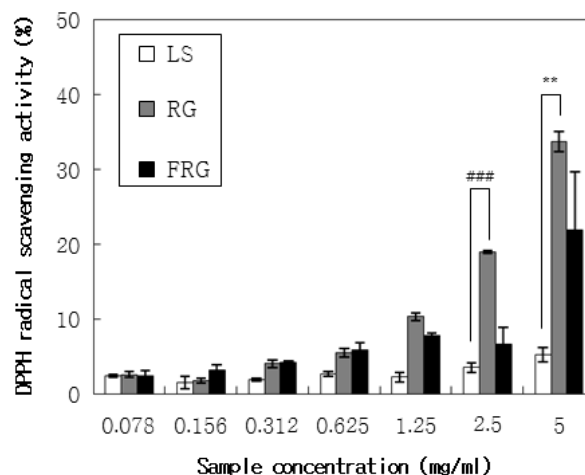


Figure 2. Antioxidant activity of LS, RG and FRG by DPPH radical scavenging method (***p* < 0.01, ###*p* < 0.005).

3. 결과 및 고찰

3.1. Analysis of ginsenoside

발효 전, 후의 진세노사이드의 분석결과 Rg1, Re, Rf, Rh1, Re2s, Rb1, Rc, Rb2의 함량은 감소하는 결과를 얻었으며, Rd, Rg2s는 약 2배의 함량 증가를 확인할 수 있었다(Table 3). 붉은덕다리버섯 균사체 발효를 통한 진세노사이드의 함량 감소는 생물전환이 이루어진 것을 의미하는데 어떤 물질이 뚜렷한 증가를 보이지는 않은 것으로 보아 아직 확인하지 못한 진세노사이드나 다른 물질의 증가가 있었을 것으로 사료된다.

3.2. Anti-oxidant with and without fermentation by LS

각 시료의 항산화 효능을 평가하기 위한 방법으로 DPPH radical 저해실험을 하여 저해율을 계산한 결과 [20], 농도 의존적으로 항산화능이 증가하는 경향을 보이고 있다. 농도가 높을수록 천연추출물인 RG의 항산화 효과가 더 크다는 것을 확인할 수 있었으나, 농도가 낮을수록 각 시료의 차이는 거의 나타나지 않은

것을 확인할 수 있었다. 붉은덕다리버섯 균사체의 발효물인 LS와 FRG에서는 항산화 효능이 유의하게 증가하는 양상은 보이지 않았으나 FRG에서는 RG에는 미치지 못하지만 상당한 항산화 효능이 있는 것을 확인하였다(Figure 2).

$$\text{저해율(\%)} = \frac{[(A - B) - (C - D)]}{(A - B)} \times 100$$

- A : absorbance of control group
- B : absorbance of blank control group
- C : absorbance of sample group
- D : absorbance of blank sample group

3.3. HDFn proliferation by cell migration assay

Keratinocyte에서 growth, differentiation, apoptosis and migration에 대한 상관성을 연구하였는데, MMP-2 siRNA 처리 시 migration과 growth가 감소하는 메커니

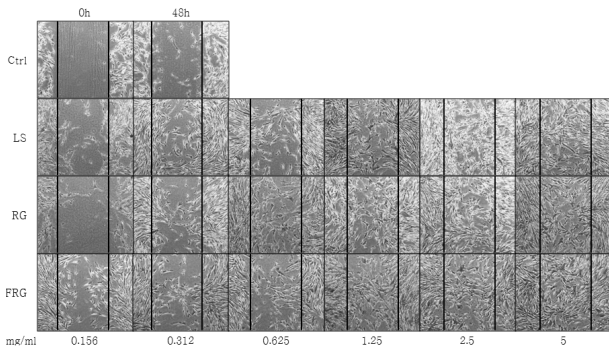


Figure 3. Cell migration effect of LS, RG and FRG in HDFn cells. The photographs show migration enhancing ability of LS, RG and FRG after 48 h. The results were visualized under inverted microscope at 40 magnification.

증에 대한 논문을 발표하여 growth와 migration이 매우 밀접한 관계가 있음을 증명하였다[21]. 따라서 cell migration은 세포의 성장과 증식에 매우 중요한 요소로 특히 wound healing 분야에 매우 중요한 연구 분야로 여겨지고 있다. Figure 3에서는 scratch한 HDFn을 crystal violet solution으로 염색하였다. Control의 경우 cell migration이 활발히 일어나지 않은 모습을 확인할 수 있으나 LS, RG, FRG를 처리한 경우에는 control에 비해서 농도 의존적으로 migration이 활발히 일어난 것을 확인할 수 있다. 농도 증가에 따른 효능의 차이를 확인할 수는 없지만 2.5 mg/mL 이하의 농도에서는 FRG가 LS와 RG에 비해 농도 의존적으로 cell migration에 효과가 우수한 것을 확인하였다.

3.4. Anti-inflammatory effect of FRG

항염평가를 위해 내독소인 LPS로 염증반응을 유도하여, 각 시료를 농도별로 처리하였다. Figure 4에서 염증반응에 관여하는 인자인 COX-2, IL-6, iNOS의 발현량을 mRNA level에서 비교한 결과 FRG의 경우 COX-2의 발현량을 조절하지는 못하였지만 IL-6, iNOS의 발현을 농도 의존적으로 저해한 것을 확인할 수 있었다. RG와 비교하였을 때 두 그룹 간에 유의한 차이를 확인할 수 있었고, LS의 경우 특별한 효능이 발견되지 않았다(data not shown). 또한 iNOS의 저해에 따른 연쇄적 메카니즘 인자인 NO의 생성이 농도 의존적으로 저해되는 것을 확인하였으며 1.25 mg/mL의 농도 이상에서 FRG의 유의한 항염효능을 확인하였다.

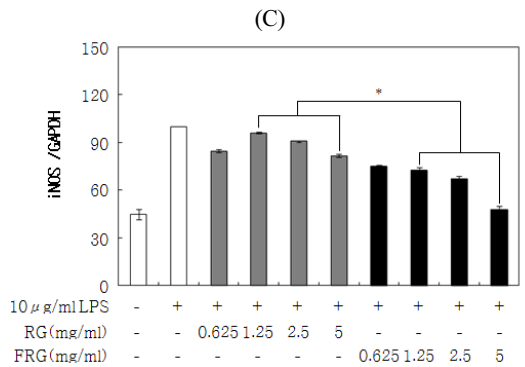
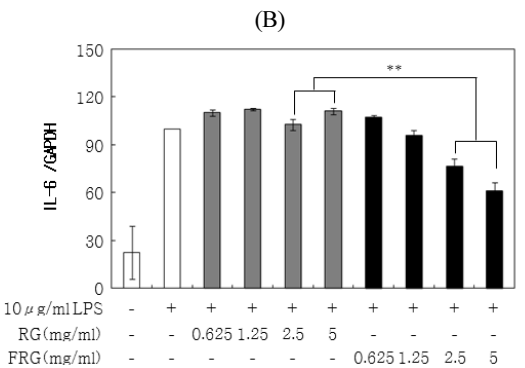
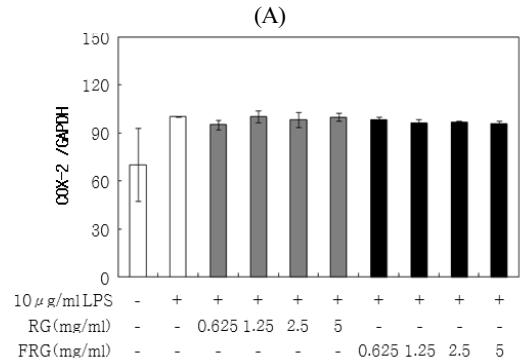
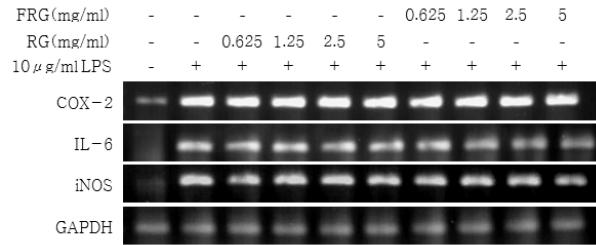


Figure 4. Anti-inflammatory effect of RG and FRG by RT-PCR. Inflammation was induced by LPS with RG and FRG in RAW 264.7 cells and PCR product was separated to size by electrophoresis (A). The bands were quantified to express gene level of COX-2 (B), IL-6 (C) and iNOS (D) (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

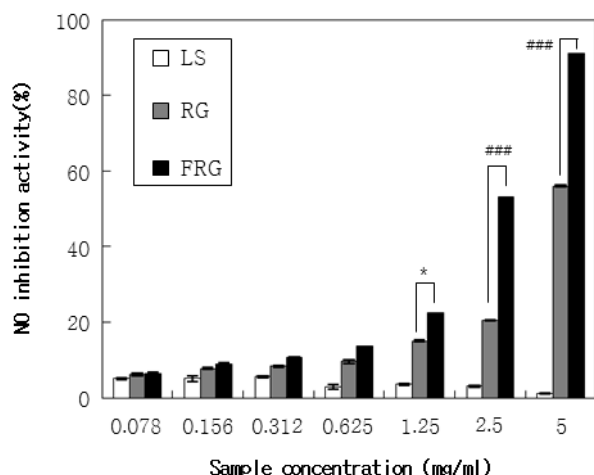


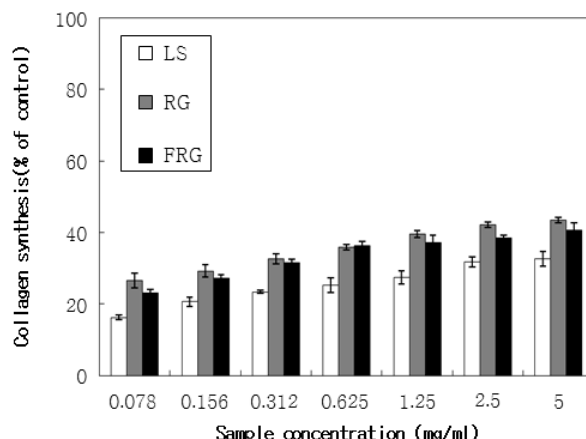
Figure 5. NO inhibition activity of LS, RG and FRG in RAW 264.7 cells. NO was induced by LPS and cells were treated with LS, RG and FRG (* $p < 0.05$, ### $p < 0.005$).

3.5. The evaluated anti-aging effect of FRG

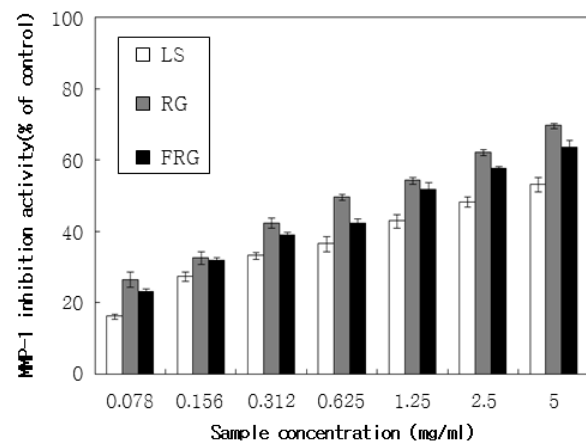
LS, RG 그리고 FRG의 콜라겐 합성정도를 확인한 결과 농도 의존적으로 콜라겐 합성이 증가하나 유의한 차이를 보이지 않았으며, LS에 비해 RG과 FRG에서 약 10% 정도의 콜라겐 합성이 증가한 것을 확인할 수 있었으나 유의한 차이는 확인할 수 없었다 (Figure 6A). 콜라겐 I 분해효소인 MMP-1의 합성 저해율 결과, 농도 의존적으로 MMP-1의 합성 저해율이 증가하는 양상을 보이고 있다. 하지만 각 시료별 유의한 차이는 확인할 수 없었다(Figure 6B).

4. 결 론

본 연구에서는 붉은덕다리버섯 균사체를 발효균주로 사용하여 제조된 FRG의 다양한 생리활성 효능을 확인하여 새로운 항염소재의 가능성을 확인한 연구이다. RG와 FRG의 진세노사이드 분석 결과 RG의 진세노사이드가 FRG에서는 생분해되어 함량이 감소한 것을 확인할 수 있었으나(Table 3), 어떠한 성분이 증가하였는지는 확인할 수 없었다. 세포독성(data not shown), MMP-1 inhibition 및 collagen synthesis에서는 FRG가 RG에 비해서 특별히 뛰어난 효능이 있다는 결과를 보이지는 않았으나, cell migration 결과 비교적 낮은 농도인 2.5 mg/mL의 농도에서 FRG의 세포 증식 및 cell migration이 활발히 진행된 것을 확인할 수 있



(A)



(B)

Figure 6. Anti-aging activity of LS, RG and FRG in HDFn cells. The graphs show collagen synthesis effect (A) and MMP-1 inhibition activity (B) of LS, RG and FRG.

었다. 또한 항염증 실험으로 RT-PCR을 이용한 염증 매개인자의 발현 저해 효능을 확인한 결과 RG에 비해 FRG가 iNOS, IL-6와 NO에서 농도 의존적으로 항염효능을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 이는 붉은덕다리 균사체 발효를 통해 증가된 진세노사이드(Rd, Rg2s) 보다는 확인되지 못한 저분자 물질이 대식세포에 작용하여 우수한 항염효과를 갖는 것으로 여겨진다. 향후 발효로 인하여 증가된 항염 물질에 대한 연구가 필요하다고 사료된다.

Acknowledgement

본 연구는 산업통상자원부의 지역혁신센터(RIC) 사업의 일환으로 서원대학교 친환경 바이오 소재 및 식품 센터(BioRIC)의 2012년도 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

Reference

- H. D. Hong, S. Y. Choi, Y. C. Kim, Y. C. Lee, and C. W. Cho, Rapid determination of ginsenosides Rb1, Rf, and Rg1 in Korean ginseng using HPLC, *J. Ginseng Res.*, **33**(1), 8 (2009).
- K. Y. Nam, The comparative understanding between red ginseng and white ginsengs, processed ginsengs (*Panax ginseng* C. A. Meyer), *J. Ginseng Res.*, **29**(1), 1 (2005).
- K. S. Choi, H. Song, E. H. Kim, J. H. Choi, H. Hong, Y. M. Han, and K. B. Hahm, Inhibition of hydrogen sulfide-induced angiogenesis and inflammation in vascular endothelial cells: potential mechanisms of gastric cancer prevention by Korean red ginseng, *J. Ginseng Res.*, **36**(2), 135 (2012).
- J. Zhu, C. Luo, P. Wang, Q. He, J. Zhou, and H. Peng, Saikosaponin A mediates the inflammatory response by inhibiting the MAPK and NF- κ B pathways in LPS-stimulated RAW 264.7 cells, *Experimental and Therapeutic Medicine*, **5**(5), 1345 (2013).
- E. H. Sohn, S. A. Jang, C. H. Lee, K. H. Jang, S. C. Kang, H. J. Park, and S. Pyo, Effects of Korean red ginseng extract for the treatment of atopic dermatitis-like skin lesions in mice, *J. Ginseng Res.*, **35**(4), 479 (2011).
- Y. S. Kim, I. H. Cho, M. J. Jeong, S. J. Jeong, S. Y. Nah, Y. S. Cho, S. H. Kim, A. Go, S. E. Kim, S. S. Kang, C. J. Moon, J. C. Kim, S. H. Kim, and C. S. Bae, Therapeutic effect of total ginseng saponin on skin wound healing, *J. Ginseng Res.*, **35**(3), 360 (2011).
- B. H. Han, M. K. Park, and E. S. Lee, Studies on the absorption and excretion of ginsenosides, *Kor. J. Ginseng Sci.*, **15**(2), 112 (1991).
- S. J. Park, D. H. Kim, N. S. Paek, and S. S. Kim, Preparation and quality characteristics of the fermentation product of ginseng by lactic acid bacteria (FGL), *J. Ginseng Res.*, **30**(2), 88 (2006).
- S. H. Bae, H. S. Lee, M. R. Kim, S. Y. Kim, J. M. Kim, and H. J. Suh, Changes of ginsenoside content by mushroom mycelial fermentation in red ginseng extract, *J. Ginseng Res.*, **35**(2), 235 (2011).
- X. Xu, M. Yasuda, S. N. Tsuruta, M. Mizuno, and H. Ashida, Glucan from *Lentinus edodes* inhibits nitric oxide and tumor necrosis factor. Production and phosphorylation of mitogen-activated protein kinases in lipopolysaccharide-stimulated murine RAW 264.7 macrophages, *J. Biol. Chem.*, **287**(2), 871 (2012).
- D. Akramienė, A. Kondrotas, J. Didžiapetrienė, and E. Kėvelaitis, Effects of β -glucans on the immune system, *Medicina Kaunas*, **43**(8), 597 (2007).
- M. Y. Lung and W. Z. Huang, Antioxidant properties of polysaccharides from *Laetiporus sulphureus* in submerged cultures, *Afr. J. Biotechnol.*, **11**(23), 6350 (2012).
- M. R. Hong, Y. S. Kim, A. R. Joo, J. K. Lee, Y. S. Kim, and D. K. Oh, Purification and characterization of a thermostable β -1,3-1,4-glucanase from *Laetiporus sulphureus* var. *miniatus*, *J. Microbiol. Biotechnol.*, **19**(8), 818 (2009).
- J. Chen and R. Seviour, Medicinal importance of fungal β -(1/3), (1/6)-glucans, *Mycological Research*, **111**(6), 635 (2007).
- T. Yayeh, K. H. Jung, H. Y. Jeong, J. H. Park, Y. B. Song, Y. S. Kwak, H. S. Kang, J. Y. Cho, J. W. Oh, S. K. Kim, and M. H. Rhee, Korean red ginseng saponin fraction downregulates proinflammatory mediators in LPS-stimulated RAW264.7 cells and protects mice against endotoxic shock, *J. Ginseng Res.*, **36**(3), 263 (2012).
- D. H. Kim, J. H. Chung, J. S. Yoon, Y. M. Ha, S. J. Bae, E. K. Lee, K. J. Jung, M. S. Kim, Y. J. Kim, M. K. Kim, and H. Y. Chung, Ginsenoside Rd in-

- hibits the expressions of iNOS and COX-2 by suppressing NF- κ B in LPS-stimulated RAW264.7 cells and mouse liver, *J. Ginseng Res.*, **37**(1), 54 (2013).
17. S. I. Hwang, H. J. Ju, H. D. Kim, T. W. Kwak, B. H. Yoo, S. G. Kim, C. W. Lee, T. H. Hwang, and W. G. An, Anti-inflammatory effect of fermented red ginseng via regulation of NF- κ B signal transduction, *Kor. J. Ori. Med. Physiol. Pathol.*, **25**(3), 521 (2011).
 18. K. C. Song, T. S. Chang, H. J. Lee, J. H. Kim, J. H. Park, and G. S. Hwang, Processed panax ginseng, sun ginseng increases type I collagen by regulating MMP-1 and TIMP-1 expression in human dermal fibroblasts, *J. Ginseng Res.*, **36**(1), 61 (2012).
 19. H. S. Lee, M. R. Kim, Y. H. Park, H. J. Park, U. J. Chang, S. Y. Kim, and H. J. Suh, Fermenting red ginseng enhances its safety and efficacy as a novel skin care anti-aging ingredient : *In vitro* and animal study, *J. Med. Food*, **15**(11), 1015 (2012).
 20. Y. C. Chen, Y. Sugiyama, N. Abe, R. Kuruto-Niwa, R. Nozawa, and A. Hirota, DPPH radical-scavenging compounds from dou-chi, a soybean fermented food, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**(5), 999 (2005).
 21. M. Xue and C. J. Jackson, Autocrine actions of matrix metalloproteinase (MMP)-2 counter the effects of MMP-9 to promote survival and prevent terminal differentiation of cultured human keratinocytes, *J. Invest. Dermatol.*, **128**(11), 2676 (2008).