

## NF-κB 활성 조절을 통한 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액의 항염 효과

차 화 준<sup>†</sup>

오산대학교, 뷰티코스메틱계열, 교수  
(2023년 8월 29일 접수, 2023년 9월 24일 수정, 2023년 9월 27일 채택)

### Anti-inflammatory Effects of *Lactobacillus johnsonii* Lysate via Regulation of NF-κB Activity

Hwa Jun Cha<sup>†</sup>

Osan university, Department of Beauty & Cosmetics, Osan University,  
45 Cheonghak-ro, Osan, Gyeonggi-do, 18119, Korea  
(Received August 29, 2023; Revised September 24, 2023; Accepted September 27, 2023)

**요약:** 본 연구에서는 김치유래의 *Lactobacillus johnsonii*의 anti-inflammation 효능을 확인하였다. Rat 유래 대식세포인 Raw 264,7세포에 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄물을 처리하여 염증유발 marker인 TNFα와 IL1β의 발현량을 확인한 결과 250 μg/mL 추출물을 처리시 1 μg/mL LPS를 처리한 대조군 대비 각각 40.55%와 34.66%의 TNFα와 IL1β의 발현량 감소를 확인하였다. 또한 LPS에 의한 cytokine 발현의 핵심 전사인자인 NF-κB의 전사활성을 확인한결과 1 μg/mL LPS를 처리한 대조군 대비 NF-κB의 전사활성은 40.76% 억제됨을 확인하였다. 때문에 본 연구결과를 통해 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄물은 LPS에 의한 cytokine의 발현을 방지 및 NF-κB전사활성 조절을 통해 항염 또는 피부진정 기능성 소재로서 가능성을 확인하였다.

**Abstract:** In this study, the anti-inflammation efficacy of *Lactobacillus johnsonii* derived from Kimchi was investigated. Raw 264.7 cells, which are rat-derived macrophages, were treated with *Lactobacillus johnsonii* lysate to confirm the expression level of TNFα and IL1β, which are inflammatory markers, and when treating 250 μg/mL extract, the expression level of TNFα and IL1β decreased by 40.55% and 34.66% compared to the control group treated with 1 μg/mL LP, respectively. In addition, as a result of confirming the transcriptional activity of NF-κB, a key transcription factor in cytokine expression by LPS, it was confirmed that the transcriptional activity of NF-κB was 40.76% inhibited compared to the control group treated with 1 μg/mL LPS. Therefore, the results of this study confirmed that *Lactobacillus johnsonii* lysate is likely to be an anti-inflammatory or skin-soothing functional material by preventing the expression of cytokine by LPS and controlling NF-κB transcriptional activity.

**Keywords:** *Lactobacillus johnsonii*, NF-κB, inflammation, skin calming

## 1. 서 론

피부를 포함하는 생체 모든 조직은 내외부에서 발생하는 화학적, 물리적, 생물학적 자극에 의한 조직 손상 시, 이를 최소화하기 위해 생체의 방어기전 중 하나인 염증을

유발시킨다[1,2]. 특히 이러한 염증은 생체조직에서 여러 종류의 자극에 대한 방어작용과 항상성 유지작용에 관여하는 대식세포를 통해 주로 발생된다[1]. 염증이 대식세포에서 일어날 때, 대식세포에서는 pro-inflammatory cytokine인 interleukin-6 (IL-6), interleukin-1β (IL-1β), tumor necrosis factor-α (TNFα) 등과 염증인자인 inducible nitric oxide synthase (iNOS), prostaglandin E2 (PGE2)의 발현이 증가한다[3].

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: hjcha@osan.ac.kr)  
call: 031-370-2864

Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- $\kappa$ B)는 염증 조절에 중요한 역할을 담당하는 전사 인자로 세포의 생존 및 염증과 관련한 유전자의 발현을 조절하는 역할을 한다[4,5]. 특히 NF- $\kappa$ B는 염증을 일으키는 cytokine, chemokine 등의 유전자 발현을 조절하여 면역반응을 조절하는 것으로 알려져 있다[6,7]. 특히, 피부에서는 피부염 같은 염증성 질환을 조절하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[8]. 피부염은 피부가 자극을 받아 붉어지고, 부어오르고, 가렵게 되는 염증성 질환으로 비누, 세제, 화학물질 등의 자극성 물질이나 알레르기 물질에 노출되었을 때 발생될 수 있다[9,10].

피부 염증 조절물질 개발은 최근 문제가 되고 있는 아토피 피부염, 건선 등과 같은 병적 피부의 진정작용에 매우 중요한 시도이다[11,12]. 특히 부작용이 적은 다양한 천연물에서 이러한 피부염증을 조절하는 기능성 소재의 탐구가 활발하게 진행되고 있으며, 이러한 항염 효능은 천연물이 가지고 있는 폴리페놀과 플라보노이드 등과 같은 생리활성 물질에 의해서 생물학적인 효능을 가지는 것으로 보고되어 왔다[13-15].

특히 다양한 발효식품 및 인체내 대장에서 발견되는 *Lactobacillus*속은 유산균의 한 종류로서 이에 의한 항염효능이 밝혀져 다양한 산업용 생물소재화 연구가 이뤄지고 있다 [16,17]. 때문에 본 연구에서는 *Lactobacillus johnsonii* 추출물의 피부세포내에서 항염 효과를 규명하고 이를 통해서 새로운 화장품 항염 원료로서 활용가능성을 제시하고자 한다.

## 2. 실험방법

### 2.1. *Lactobacillus johnsonii* 분리 및 파쇄액 제조

본 실험에서는 *Lactobacillus johnsonii* ATCC33200 (ATCC, USA)을 사용하였고, 배양은 MRS broth (Becton Dickinson, USA) 배지에 배양하였다. *Lactobacillus johnsonii*를 전배양 후 전배양액 1%를 MRS broth에 24 h 배양한 후 9,000 rpm에서 10 min 동안 원심분리하여 유산균체를 분리하였고, PBS (Welgene, Korea)로 2 회 세척하고, 증류수를 첨가 후 초음파분쇄기(ultrasonic processor, Branson Ultrasonics Model 450, USA)를 이용하여 20 min 동안 sonication 하여 유산균을 완전히 파괴하였다. 유산균 파쇄액은 9,000 rpm에서 10 min 동안 원심 분리하여 불용성의 물질을 제거하였고, 수거된 상층 액을 0.2  $\mu$ m syringe filter (Millipore, USA)로 제균하여 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액을 얻었다. *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액 동결건조하여 DMSO (Sigma, USA)에 희석하여 세포에 처리하였다.

### 2.2. 세포독성시험

세포독성시험은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MIT, Sigma-aldrich, USA)를 이용하여 측정하였다. Raw 264.7 cell (ATCC, USA)에 *Lactobacillus plantarum* 발효 추출물을 각각의 농도로 24 h 처리 후 500  $\mu$ g/mL MIT를 처리하여 4 h 반응을 시키고 상등액 제거 후 각 well에 DMSO 100  $\mu$ L을 넣어 녹여준 뒤 plate reader (Thermo Fisher Scientific, USA)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.3. TNF $\alpha$ 와 IL1 $\beta$ 발현 측정

TNF $\alpha$ 와 IL1 $\beta$  mRNA의 발현은 quantitative polymerase chain reaction (qPCR)을 이용하여 측정하였다. 1  $\mu$ g/mL lipopolysaccharide(LPS, Sigma, USA)와 추출물을 동시에 처리하고, 24 h 동안 처리가 끝난 Raw 264.7 cell에 TRIzol (Invitrogen, USA)을 이용하여 total RNA를 추출한 후 reverse transcriptase (Qiagen, Germany)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 각각 합성된 cDNA에 TNF $\alpha$ 와 IL1 $\beta$ 의 발현을 확인하기 위해 TNF $\alpha$  primer (TNF $\alpha$  forward 5'-TTGACC TCAGCGCTGAGTTG-3'; TNF $\alpha$  reverse 5'-CCTGTAGCC CACGTCGTAGC-3; IL1 $\beta$  forward 5'-CAGGATGAGGACA TGAGCACC-3'; IL1 $\beta$  reverse 5'-CTCTGCAGACTCAAA CTCCAC-3')와 miScript SYBR-Green PCR Kit (Qiagen, Germany)을 이용하여 LineGene K cyclor (BioER, China)에서 qPCR을 진행하였고, 모든 결과는 GAPDH mRNA의 양을 측정하여 normalization한 값으로 결과를 도출하였다.

### 2.4. NF- $\kappa$ B 전사 활성 측정

NF- $\kappa$ B 전사 활성 측정은 reporter plasmid인 pGL-NF- $\kappa$ B를 이용하여 측정하였다. pGL-TRE (1  $\mu$ g)와 normalization plasmid인 pCMV- $\beta$ -gal(0.2  $\mu$ g)을 Hilymix (Dojindo, Japan)을 이용하여 Raw 264.7 cell에 형질 주입하고, 1  $\mu$ g/mL LPS와 추출물을 동시에 처리한 후 24 h동안 처리하였다. 처리가 끝난 세포를 수확하여 1 X luciferase lysis buffer (Promega, USA)에 넣고 용해 후 luciferase reagent (Promega, USA)를 이용하여 luciferase의 활성을 측정하여 NF- $\kappa$ B 전사 활성을 측정하였다. 모든 값은  $\beta$ -galactosidase의 활성을 O-nitrophenyl- $\beta$ -D-galactopyranoside (ONPG) assay로 측정하여 보정하였다.

### 2.5. Cytokine 발현 측정

Raw 264.7 cell에 LPS 1  $\mu$ g/mL와 추출물을 동시에 처리한 후 24 h동안 배양하였다. 배양 후 세포배양액을 회수하여 원심분리한 후 얻어진 상층액 내의 cytokine (IL-1 $\beta$ ,

TNF $\alpha$ ) 단백질 생성량을 측정하였다. 각 단백질 생성량은 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (R&D Systems, USA)을 이용하여 정량하였다.

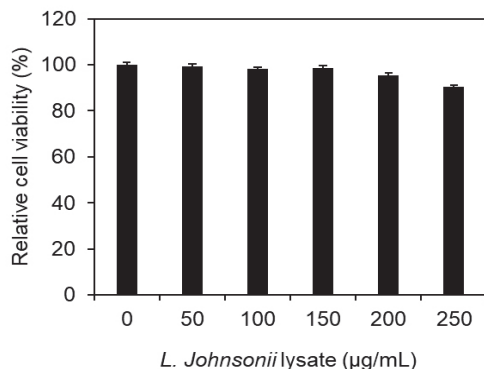
## 2.6. 통계분석

모든 결과는 3 회 반복 실험되었으며, student's *t*-test를 통해  $p < 0.05$ 의 결과에 통계적인 유의성이 있다고 판단하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액 제조 및 Raw264.7 세포에서 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액의 세포 독성확인

본 실험에서는 *Lactobacillus johnsonii* 배양액, *Lactobacillus johnsonii* 균체를 포함하는 파쇄액, *Lactobacillus johnsonii* 균체를 포함하지 않는 파쇄액의 항염 활성을 비교하는 사전 연구를 통해 *Lactobacillus johnsonii* 균체를 포함하지 않는 파쇄액을 선택하여 실험을 진행하였다(Data not shown). 일반적으로 대부분의 논문에서 배양액의 효능을 입증하지만 사전 연구결과 배양액(1  $\mu$ g/mL LPS처리군 대비 250  $\mu$ g/mL배양액에 의해서 15.21% 감소)보다 균체를 포함하지 않는 파쇄액(1  $\mu$ g/mL LPS처리군 대비 250  $\mu$ g/mL배양액에 의해서 40.76% 감소)의 항염활성이 높고, 균체를 포함하는 파쇄액의 경우 기존 균체 또는 균체파쇄액을 이용하여 효능을 입증하는 연구에서 보여지는 것처럼 NF- $\kappa$ B의 활성을



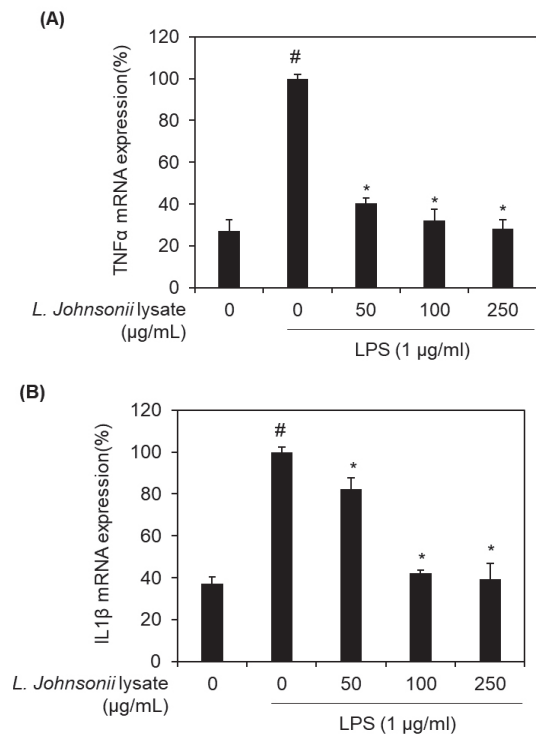
**Figure 1.** The cytotoxicity of *Lactobacillus johnsonii* lysate. Raw264.7 cells were treated with *Lactobacillus johnsonii* lysate (concentration is  $\mu$ g/mL) for 48 h, 37  $^{\circ}$ C. The result is presented as the mean  $\pm$  SD of the experiment (N = 3). \* $p < 0.05$  (vs. control).

증가시키는 것으로 도출되어 본 연구에서는 균체를 제거한 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액을 사용하여 실험을 진행하였다[22,23].

*Lactobacillus johnsonii* 파쇄액에 의한 Raw 264.7 cell의 세포생존율은 MTT assay를 통해 확인하였다(Figure 1). *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액을 50, 100, 150, 200, 250  $\mu$ g/mL농도별로 처리하여 세포독성을 측정한 결과 250  $\mu$ g/mL까지 90% 이상의 생존율을 보였다. 때문에 이후 실험에서는 독성이 없는 250  $\mu$ g/mL이하 농도 구간에서 진행하였다.

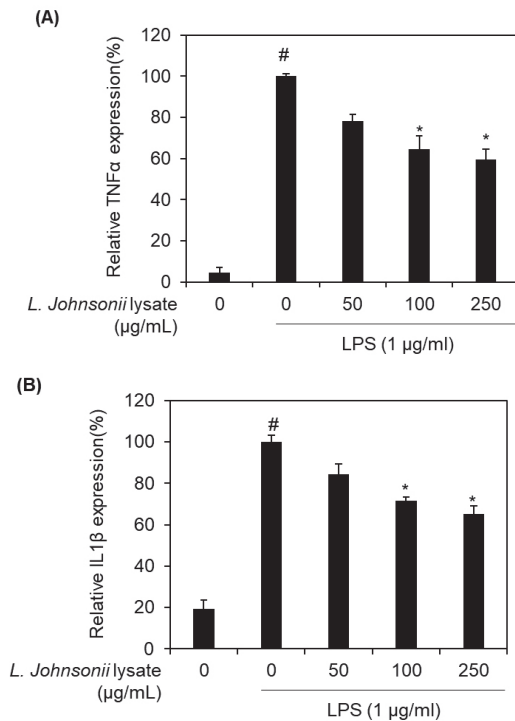
### 3.2. Raw 264.7 Cell에서 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액의 TNF $\alpha$ 와 IL1 $\beta$ 발현조절확인

피부 염증에 주요한 단백질인 TNF $\alpha$ 와 IL1 $\beta$  발현을 확인하였다[18-21]. *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액의 염증성 사이토카인 발현 억제 효과를 확인하기 위해 LPS로 TNF $\alpha$

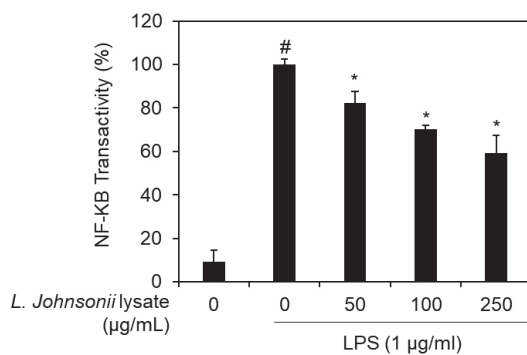


**Figure 2.** The effect of *Lactobacillus johnsonii* lysate on TNF $\alpha$  and IL1 $\beta$  mRNA.

Raw264.7 cells were treated with LPS and *Lactobacillus johnsonii* lysate (concentration is  $\mu$ g/mL) for 24 h, 37  $^{\circ}$ C. The result is presented as the mean  $\pm$  SD of the experiment (N = 3). <sup>#</sup> $p < 0.05$  (vs. control), <sup>\*</sup> $p < 0.05$  (vs. LPS treated Raw264.7 cells).



**Figure 3.** The effect of *Lactobacillus johnsonii* lysate on TNFα and IL1β. Raw264.7 cells were treated with LPS and *Lactobacillus johnsonii* lysate (concentration is μg/mL) for 24 h, 37 °C. The result is presented as the mean ± SD of the experiment (N = 3). <sup>#</sup>p < 0.05 (vs. control), <sup>\*</sup>p < 0.05 (vs. LPS treated Raw264.7 cells).



**Figure 4.** The effect of *Lactobacillus johnsonii* lysate on NF-κB transcription activity. Raw264.7 cells were treated with LPS and *Lactobacillus johnsonii* lysate (concentration is μg/mL) for 24 h, 37 °C. The result is presented as the mean ± SD of the experiment (N = 3). <sup>#</sup>p < 0.05 (vs. control), <sup>\*</sup>p < 0.05 (vs. LPS treated Raw264.7 cells).

와 IL1β의 발현을 유도하고 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액을 처리하였다. 실험결과 LPS에 의해 유도되는 TNFα와 IL1β의 mRNA의 발현이 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액에 의해서 발현이 감소되는 것을 확인하였다(Figure 2). 또한 ELISA를 통해 TNFα와 IL1β의 단백질 발현 역시 감소되는 것으로 확인되었다. 본 실험에서는 LPS와 유산균 추출물을 동시에 처리하였으며, 이는 LPS에 의해서 발현된 염증성 사이토카인의 감소는 신호전달과정의 저해를 통해 염증성 사이토카인의 mRNA발현이 억제됨을 의미한다. 또한 LPS는 일반적으로 세균의 막에 존재하는 염증유발 물질이기 때문에 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액은 세균노출 환경에서 발생하는 염증 유발을 저해할 수 있을 것으로 판단할 수 있다[22,23].

### 3.3. NF-κB 전사 활성 확인

*Lactobacillus johnsonii* 파쇄액이 염증성 사이토카인의 발현을 조절하기 때문에 이를 조절할 수 있는 것으로 알려져 있는 NF-κB의 전사활성을 확인하였다[24]. NF-κB 전사 활성은 NF-κB binding site가 삽입되어 있는 pGL3- NF-κB를 이용하여 확인하였다[25]. 실험결과 LPS에 의해서 유도된 NF-κB의 전사활성이 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액에 의해서 농도의존적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

때문에 본 논문의 결과를 종합하였을 때 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액이 세균 또는 염증 유발인자 노출에 의해 과도하게 생성된 사이토카인을 통한 피부염증의 개선원료로 사용할 수 있는 가능성을 보여주었다[19-20,24]. 또한 기존실험을 통해 항염효과가 입증된 *lactobacillus*속에서 동일한 항염효과가 있음을 확인할 수 있는데[16,17], 이는 *lactobacillus*속이 공통적인 성분을 가지고 있기 때문에 유사한 효능을 보여주는 것으로 판단할 수 있다[14,16,17].

## 4. 결론

본 연구에서 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액을 활용하여 항염 효능을 확인하였다. Raw267.4 세포에서 세포독성을 확인하고, NF-κB활성 조절 능력을 측정하여 항염효능을 연구하였다. 연구결과 Raw264.7 세포에 세포독성은 250 μg/mL까지 영향을 미치지 않았으며(Figure 1), LPS로 유발된 염증유발 단백질인 TNFα와 IL1β의 발현이 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액 250 μg/mL에서 각각 40.55%와 34.66%의 억제율을 보였다(Figure 3). 또한 염증의 주요한 전사인자인 NF-κB의 활성이 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액 250



μg/mL에서 40.76%의 억제함을 확인함으로써 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액의 NF-κB활성 조절을 통한 anti-inflammation 기능을 확인할 수 있었다(Figure 4). 본 연구를 통해 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액을 이용한 신규 아토피, 건선 등에서 항염 및 피부진정에 도움을 줄 수 있는 신규원료의 개발에 기초 결과가 될 것이다. 또한 추후 연구를 통해 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액의 주요성분에 의한 항염 효과 및 세부기전에 대한 연구가 지속되어 *Lactobacillus johnsonii* 파쇄액의 항염기전에 대한 과학적인 제시가 필요할 것으로 판단된다.

### Acknowledgement

본 과제(결과물)는 교육부와 한국연구재단의 재원으로 지원을 받아 수행된 3단계 산학연협력 선도전문대학 육성사업(LINC 3.0)의 연구결과입니다.

### References

1. M. Higuchi, N. Higashi, H. Taki, and T. Osawa, Cytolytic mechanisms of activated macrophages. Tumor necrosis factor and L-arginine-dependent mechanisms act synergistically as the major cytolitic mechanisms of activated macrophages, *J Immunol.*, **144**(4), 1425 (1990).
2. E. Park, H. I. Rhee, H. Jung, S. M. Ju, Y. Lee, S. Lee, S. Hong, H. Yang, M. Yoo, and K. S. Kim, Anti-inflammatory effects of a combined herbal preparation (RAH13) of *Phellodendron amurense* and *Coptis chinensis* in animal models of inflammation, *Phytother Res.*, **21**(8), 746 (2007).
3. N. R. Ferreri, I. Millet, V. Paliwal, W. Herzog, D. Solomon, R. Ramabhadran, and P. W. Askenase, Induction of macrophage TNF alpha, IL-1, IL-6, and PGE2 production by DTH-initiating factors, *Cell Immunol.*, **137**(2), 389 (1991).
4. T. Liu, L. Zhang, D. Joo, and S. Sun, NF-κB signaling in inflammation, *Signal Transduct Target Ther.*, **2**(1), 17023 (2017).
5. H. Zhang and S. Sun, NF-κB in inflammation and renal diseases, *Cell Biosci.*, **5**(1), 63 (2015).
6. T. Lawrence, The nuclear factor NF-κB pathway in inflammation, *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, **1**(6), a001651 (2009).
7. D. Šošić, J. A. Richardson, K. Yu, D. M. Ornitz, and E. N. Olson, Twist regulates cytokine gene expression through a negative feedback loop that represses NF-kappaB activity, *Cell*, **112**(2), 169 (2003).
8. I. Sur, M. Ulvmar, and R. Toftgård, The two-faced NF-kappaB in the skin, *Int Rev Immunol.*, **27**(4), 205 (2008).
9. S. Bell, K. Degitz, M. Quirling, N. Jilg, S. Page, and K. Brand, Involvement of NF-kappaB signalling in skin physiology and disease, *Cell Signal.*, **15**(1), 1 (2003).
10. A. Tanaka, S. Muto, K. Jung, A. Itai, and H. Matsuda, Topical application with a new NF-kappaB inhibitor improves atopic dermatitis in NC/NgaTnd mice, *J. Invest. Dermatol.*, **127**(4), 855 (2007).
11. J. Kim and K. W. Lee, Molecular targets of phytochemicals for skin inflammation, *Curr Pharm Des.*, **24**(14), 1533 (2018).
12. S. A. Shin, B. J. Joo, J. S. Lee, G. Ryu, M. Han, W. Y. Kim, H. H. Park, J. H. Lee, and C. S. Lee, Phytochemicals as anti-inflammatory agents in animal models of prevalent inflammatory diseases, *Molecules*, **25**(24), 5932 (2020).
13. S. Wu, Y. Pang, Y. He, X. Zhang, L. Peng, J. Guo, and J. Zeng, A comprehensive review of natural products against atopic dermatitis: Flavonoids, alkaloids, terpenes, glycosides and other compounds, *Biomed Pharmacother.*, **140**(1), 111741 (2021).
14. M. Sun, Y. Deng, X. Cao, L. Xiao, Q. Ding, F. Luo, P. Huang, Y. Gao, M. Liu, and H. Zhao, Effects of natural polyphenols on skin and hair health: A review, *Molecules*, **27**(22), 7832 (2022).
15. M. Działo, J. Mierziak, U. Korzun, M. Preisner, J. Szopa, and A. Kulma, The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders, *Int. J. Mol. Sci.*, **17**(2), 160 (2016).
16. R. Ayyanna, D. Ankaiah, and V. Arul, Anti-inflammatory and antioxidant properties of probiotic bacterium *Lactobacillus mucosae* AN1 and *Lactobacillus fermentum* SNR1 in wistar albino rats, *Front Microbiol.*, **9**(1), 3063 (2018).
17. K. J. Han, J. Lee, N. Lee, and H. Paik, Antioxidant and anti-inflammatory effect of probiotic *Lactobacillus plantarum* KU15149 derived from Korean homemade diced-radish

- Kimchi, *J. Microbiol. Biotechnol.*, **30**(4), 591 (2020).
18. Y. Cai, F. Xue, C. Quan, M. Qu, N. Liu, Y. Zhang, C. Fleming, X. Hu, H. Zhang, R. Weichselbaum, Y. Fu, D. Tieri, E. C. Rouchka, J. Zheng, and J. Yan, A critical role of the IL-1 $\beta$ -IL-1R signaling pathway in skin inflammation and psoriasis pathogenesis, *J. Invest. Dermatol.*, **139**(1), 146 (2019).
  19. L. Calabrese, Z. Fiocco, T. K. Satoh, K. Peris, and L. E. French, Therapeutic potential of targeting interleukin-1 family cytokines in chronic inflammatory skin diseases, *Br. J. Dermatol.*, **186**(6), 925 (2022).
  20. M. M. Bashir, M. R. Sharma, and V. P. Werth, TNF-alpha production in the skin, *Arch. Dermatol. Res.*, **301**(1), 87 (2009).
  21. R. W. Groves, M. H. Allen, E. L. Ross, J. N. Barker, and D. M. MacDonald, Tumour necrosis factor alpha is pro-inflammatory in normal human skin and modulates cutaneous adhesion molecule expression, *Br. J. Dermatol.*, **132**(3), 345 (1995).
  22. A. V. Kostarnoy, P. G. Gancheva, D. Y. Logunov, L. V. Verkhovskaya, M. A. Bobrov, D. V. Scheblyakov, A. I. Tukhvatulin, N. E. Filippova, B. S. Naroditsky, and A. L. Gintsburg, Topical bacterial lipopolysaccharide application affects inflammatory response and promotes wound healing, *J. Interferon Cytokine Res.*, **33**(9), 514 (2013).
  23. A. Xie, A. Chen, Y. Chen, Z. Luo, S. Jiang, D. Chen, and R. Yu, Lactobacillus for the treatment and prevention of atopic dermatitis: Clinical and experimental evidence, *Front Cell Infect Microbiol*, **13**(1), 1137275 (2023).
  24. A. Thoma, and A. P. Lightfoot, NF-kB and inflammatory cytokine signalling: Role in skeletal muscle atrophy, *Adv Exp Med Biol*, **1088**(1), 267 (2018).
  25. J. P. Cogswell, M. M. Godlevski, G. B. Wisely, W. C. Clay, L. M. Leesnitzer, J. P. Ways, and J. G. Gray, NF-kappa B regulates IL-1 beta transcription through a consensus NF-kappa B binding site and a nonconsensus CRE-like site, *J. Immunol.*, **153**(2), 712 (1994).