

## 국내 전통식품 품질인증 된장의 $\alpha$ -SMA 발현억제효과

박소림 · 이소영 · 김인선 · 임성일 · 송진<sup>1</sup> · 최신양\*

\*한국식품연구원 발효기능연구단, <sup>1</sup>농진청 국립농업과학원 농식품자원부

### Hepatoprotective Activity of Quality Certificated Traditional Doenjang in Korea

So-Lim Park, So-Young Lee, In-Sun Kim, Seong-Il Lim, Jin Song, and Shin-Yang Choi\*

\*Fermentation and Functionality Research Group, Korea Food Research Institute

<sup>1</sup>Department of Agro-food resources, National Academy of Agricultural science, RDA

#### Abstract

This study investigated the  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) inhibitory activity of traditional *doenjang* in Korea. Only the traditional *doenjang* of which quality was certificated in Korea was used in this study. The most significant marker for fibrolysis is the expression of  $\alpha$ -SMA and when MEF cells were treated with extract of Kyongbuk *doenjang*, the  $\alpha$ -SMA expression was suppressed 74%, Gangwon and Chunbuk *doenjang* were suppressed the  $\alpha$ -SMA expression more than 60% compared with the control. Particularly Kyongbuk *doenjang* was fermented over 2 years and the difference between Kyongbuk *doenjang* and silymarin was only 10%.

**Key words:** *Doenjang*, hepatoprotective activity,  $\alpha$ -smooth muscle actin inhibition

#### 서론

2011년 우리나라 주요사망원인별 사망률 추이 통계에 따르면 간질환관련 사망률은 10만명당 약 13.5명 정도로 전체사망자 중 약 2.6%를 차지하며 이는 사망원인 8위에 해당하는 것으로 나타났다(Statistics Korea, 2012). 간질환은 다양한 원인에 의해 간이 손상을 받기 시작하면 간섬유화, 간경화를 거쳐 간암으로 진행되는 것으로 알려져있다. 반복되는 간손상으로 인해 간성상세포가 자극을 받아 활성화되면서 근섬유모세포와 유사한 활성화상태의 세포로 전환이 일어나며, 이때  $\alpha$ -smooth muscle actin( $\alpha$ -SMA)이 발현되어 교원질(collagen)과 fibronectin의 합성을 촉진시키는 것으로 알려져있다(Mcgee & Patrick, 1972). 그러나 만성적인 간 손상은 반복적인 섬유용해(fibrolysis)와 간 손상복구를 위한 섬유생성(fibrogenesis) 과정간의 밸런스가 무너져 세포외기질(extracellular matrix, ECM)이 이상증식되는 간섬유증으로 진행된다. 정상간의 교원질은 전체무게의 약

0.5%이나 간경변에서는 10 배 이상 증가하며 간 섬유증 역시 간내 교원질 증가가 원인인 것으로 알려져있다(Lee, 2006).

간질환의 중착역 격인 간암에 사용되는 의약품은 현재 바이엘사의 넥사바가 거의 유일한데, 이 또한 일본에서 간부전과 간성뇌증 등의 부작용을 일으킨다는 보고가 있으며 임상시험에서 나온 결과는 치료가 아닌 생존기간의 연장(약 9개월)에 중점을 두고 있다고 알려져 있다(Josep et al., 2008). 이로 인해 간질환 초기단계에 적용가능한 간보호 기능성 물질 발굴에 대한 학계와 의약업계의 노력이 계속되고 있으며 현재는 영경퀴과에서 분리된 silymarin이 간보호 작용을 하는 기능성 물질로 알려져 항바이러스제와 같이 치료에 사용되고 있다. 현재까지 간보호 기능성을 가진 것으로 밝혀진 식품은 강황(curcumin), 벌꿀(caffeic acid phenethyl ester, CAPE), 브로콜리(sulphoraphane)와 와사비(6(methylsulfiny) hexylisothiocyanate, 6-HITC) 등이 있으나(Surh, 2003), 간섬유화나 간경화를 효과적으로 저해하는 물질은 아직 개발되지 못했다. 최근에는 국내외적으로 의약품의 부작용과 식품의 안전성을 절충시킨 대체의학에 대한 관심이 증폭되면서 식품에서 그 해결책을 찾으려는 연구가 점점 늘어나고 있다(Hsu et al., 2009; Tanaka et al., 2009). 최근에는 herbal medicine에서 간섬유화 치료 소재를 찾으려는 연구가 진행되고 있으며(Zou et al., 2008), 그

\*Corresponding author: Shin-Yang Choi, Fermentation and Functionality Research Group, Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea

Tel: +82-31-780-9107; Fax: +82-31-709-9876

E-mail: choisy@kfri.re.kr

Received October 30, 2013; revised November 26, 2013; accepted November 27, 2013

중 식물에서 추출한 genistein의 항산화 효과와 연관된 약리학적인 연구(Hsieh et al., 2010; Ji et al., 2011; Valsecchi et al., 2011)와 사염화탄소 투여에 의한 급성 간손상에 대한 간보호 효과(Kuzu et al., 2007), 그리고 HepG2의 성장을 저해하여 괴사를 유도하는(Chodon et al., 2007) 등의 연구결과가 다수 보고되고 있다. 특히, *Hydrocotyle sibthorpioides*로부터 추출한 genistein을 알코올과 같이 장기간 식이 섭취시킨 rat 실험에서 간 효소와 관련 염증 매개인자의 수치를 감소시켰으며, 간조직내에서 콜라겐의 퇴적과 간섬유화의 바이오마커들을 감소시키는 것으로 보고되었다(Quanfang et al., 2013).

우리나라의 전통 발효식품은 오랜 역사를 가진 안전성을 대표하는 식품의 한 형태로 특히 된장은 원료인 대두로부터 전이된 daidzein, genistein과 같은 isoflavones 그리고 tocopherol 및 phenolic acids 등의 성분으로 인한 항산화 활성을 가지고 있는 것으로 보고되었다(Ahn et al., 2012). 이외에도 된장은 항비만효과(Kwon et al., 2006; Bas et al., 2013), 항당뇨활성(Lee et al., 2012), 항암활성(Lim et al., 2004) 등의 기능성이 있다고 보고되고 있지만 간 질환과 관련된 기능성에 대한 연구는 미비한 실정이다. 이는 국내식문화에서 차지하는 된장의 비중과 기능성 daily food로서의 역할을 고려할 때 연구되어야 할 가치가 충분한 것으로 여겨진다.

본 연구에서는 국내 전통식품 품질인증을 획득한 된장을 실험에 사용하였으며 이는 규정상 국내산 농수산물만을 주 원료로 사용하여야 하며, 수분 60%(w/w), 아미노산성질소 300 mg% 이상 등의 전통식품 표준규격과 식품위생법상의 된장기준 규격(Korea Food Standards codex)을 동시에 충족시켜야 한다. 공장식 제조에 의한 비특이적화된 시료가 아닌 인증을 통해 지속된 품질관리와 지역적 특색이 보존된 전통된장의 우수성을 조사하고 안전성이 확보된 간섬유화 개선 소재로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

국내 전통식품 품질인증을 받아 시판되고 있는 된장을 제조 지역별로 총 24개(강원도 4, 경기도 4, 충청도 3, 경상도 4, 전라도 6, 제주 3개) 제품을 수집하여 냉장에 보관하며 실험에 사용하였다. 본 논문에서는 제품명 대신 일련번호로 기재하였으며 각 제품의 발효기간은 6개월에서 2년 정도의 것으로 수집하였다. 그리고 실험에서 사용된 음성 대조군은 현재시판되고 있는 공장식(인스턴트식) 된장을 구매하여 사용하였으며 양성대조군은 silymarin(Sigma, USA)을 사용하였다.

### 사용시약

세포배양을 위한 DMEM, fetal bovine serum(FBS), 0.05% trypsin, penisillin-streptomycin은 모두 Gibco(Life Technologies, USA) 제품을 사용하였으며 SDS-PAGE와 blot buffer, western ECL substrate는 모두 Bio-rad(USA), 그 외의 관련 시약들은 Sigma Aldrich(USA), 또는 국내제조사에서 구매하여 사용하였다.

### 70% methanol 추출물 제조

된장시료 20 g에 70% methanol 180 mL을 첨가한 뒤 25°C에서 150 rpm으로 18시간동안 진탕배양시켰다. 진탕배양된 4°C에서 8,000 rpm으로 15분 동안 원심분리한 뒤 상등액을 분리하여 Whatman paper No.2로 여과시킨다. 여과액을 감압농축기를 이용하여 농축시킨 뒤 동결건조한 후 -20°C에서 보관하며 증류수로 일정 농도로 용해시켜 실험에 사용하였다.

### MEF세포배양

서울대학교 약학대학 약물학실로부터 분양받은 MEF (mouse embryonic fibroblast) 세포를 DMEM(FBS 10% 함유) 배지를 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기(Sanyo, Japan)에서 cell density 80-90% 정도 될 때까지 약 2일간 배양하였다. 배양 상등액을 제거한 후 trypsin/EDTA(0.25%/0.53 mM, Sigma, USA)를 처리하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 약 2분간 반응시켰다. 200×g에서 2분간 원심 분리하여 부착된 세포를 수거한 후 3×10<sup>5</sup> cell/well이 되도록 6 well plate로 옮긴 뒤 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 하루 동안 더 배양하였다. 배지 상등액을 제거한 뒤, 새로운 DMEM(FBS 제외)배지에서 6-12시간 동안 starvation 시킨 후 시료추출물을 농도별로 처리 하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 배양하였다.

### MTT assay

MEF 세포를 10<sup>5</sup> cell/100 uL 농도로 96 well plate에 분주하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 배양한 후 배지 상등액을 제거하였다. 각 농도별 시료를 DMEM과 섞어 24시간 추가 배양한 후, MTT용액(5 mg/mL) 20 uL를 첨가한 후 4시간 동안 배양하였다. Formazan 결정체를 남겨두고 상등액을 제거한 뒤 DMSO 100 uL를 첨가하여 결정체를 용해시켜 microplate reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하여 세포생존율을 계산하였다.

MTT 계산식 : 시료처리군의 흡광도/시료 비처리군의 흡광도×100

Western blot

세포를 수거하여 lysis buffer로 저온에서 약 30분간 세포 용해시킨다. 용해된 세포액을 16×g에서 15분 정도 원심 분리시켜 상등액을 분리하여 Bradford 용액으로 단백질 정량을 실시하였다. 정량의 단백질을 sample loading buffer와 섞어 100°C에서 5분간 열처리한 뒤 10% SDS-PAGE로 단백질 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 끝난 SDS-PAGE를 PVDF membrane으로 이동시킨 뒤 1% skim milk로 4°C에서 하룻밤 blocking을 실시하였다. 1차 항체(α-SMA(dilution 1:1000), β-actin(1:5000), Santa Cruz Biotechnology, USA)와 4시간 반응시킨 뒤 PBS 완충용액으로 세척한 후 2차 항체(Goat Anti-Mouse IgG-HRP, Bio-Rad)와 2시간 반응시켰다. 항체반응이 끝난 뒤 PBS 완충용액으로 세척 후 Clarity western ECL substrate(Bio-rad)로 반응시켜 Chemidoc XRS+ system(Bio-rad, USA)으로 확인하였다.

결과 및 고찰

Cell viability

기존 연구에서 여러 형태의 된장추출물이 백혈암세포, 위암세포 그리고 간암세포 등에 독성을 나타낸다는 보고(Song et al., 2001; Lim et al., 2007)에 따라 일반세포에 대한 독성 가능성을 배제하기 위하여 70% 메탄올로 된장추출물을 제조하여 MEF 세포주에 MTT assay를 실시하였다. 시료의 대부분이 메탄올 추출물 500 µg/mL 농도에서 91-99%의 cell viability를 보여 세포독성이 없는 것으로 나타났다으며 세포증식에도 영향을 주지 않는 것으로 나타나 α-SMA 발현에 대한 객관적인 효과를 검증할 수 있을 것으로 사료되었다(Table 1).

Table 1. The effect of extract from certified traditional doenjang in Korea on the cell viability of MEF cells.

Product No.	Cell viability (%)	Product No.	Cell viability (%)
Control	100.0±4.59		
1	98.95±2.52	13	94.39±2.29
2	95.62±1.34	14	98.71±4.50
3	99.32±2.08	15	96.69±3.37
4	94.85±2.12	16	98.14±4.01
5	94.04±1.03	17	96.39±3.78
6	96.32±1.05	18	93.99±1.72
7	98.33±2.89	19	98.18±2.85
8	96.59±0.49	20	94.70±2.11
9	99.64±1.39	21	91.59±4.81
10	93.67±4.01	22	97.63±2.88
11	95.88±2.47	23	96.57±3.61
12	93.68±4.77	24	97.88±3.20

Value are means±S.D., n=3

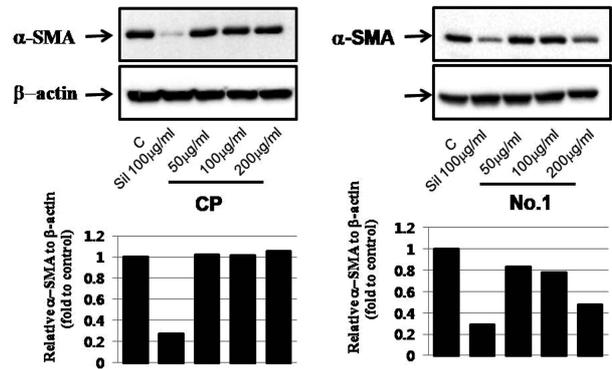


Fig. 1. Western blot analysis of α-SMA inhibitory activity from CP and certified traditional doenjang. CP(commercial product of instant doenjang) was used as negative control. The relative α-SMA to β-actin was assessed by scanning densitometry and was calculated with density of relative α-SMA to β-actin.

Anti-fibrolysis 활성

α-SMA는 간섬유화의 주요한 지표로 여러 연구에서 다루어졌는데 DMN 간 손상 쥐에서 나노분자화 시킨 Co Q10를 섭취시 간조직에서의 개선 효과를 증명하는 지표로 보고된(Choi et al., 2009) 바가 있으며 비정상적인 피부상처 회복시에 진피 섬유아세포에서 약리작용의 타겟 지표로 연구되어졌다(Goldberg et al., 2007). 본 실험에서는 MEF세포에 직접 된장추출물을 처리하여 세포내 α-SMA의 발현양상을 western blot으로 관찰한 결과 silimarin(양성대조군)처리시 control(대조군)에서 발현되던 α-SMA의 양이 현저하게 저하되는 것을 확인할 수 있었으며 된장시료의 처리농도에 따른 α-SMA 발현양상을 비교확인할 수 있었다(Fig. 1).

경북 지역에서 수집된 No. 13 전통인증된장은 α-SMA의 발현률이 control 대비 74%로 가장 높은 억제활성을 보였으며(Table 2), 이는 현재 간질환에 치료제로 사용되고 있는 silimarin과 비교시 억제활성의 정도가 약 10% 정도밖에 나지 않는 것으로 나타났다(Fig. 2). 음성 대조군으로 사용된 공장식 제조된장 제품의 경우 대조군과 흡사하게

Table 2. The effect of extract from certified traditional doenjang in Korea on the α-SMA inhibitory activity and product information.

Product No.	Local region	α-SMA inhibitory activity (%)	Fermentation period
1	Gyeonggi	50	2 years
8	Gangwon	65	Below 6 months
11	Chungnam	41	Below 6 months
12	Kyongbuk	44	Below 6 months
13	Kyongbuk	74	More than 2 years
16	Chunbuk	51	Below 6 months
17	Chunbuk	61	Below 6 months
18	Chunbuk	62	Below 6 months
21	Jeju	53	Below 6 months

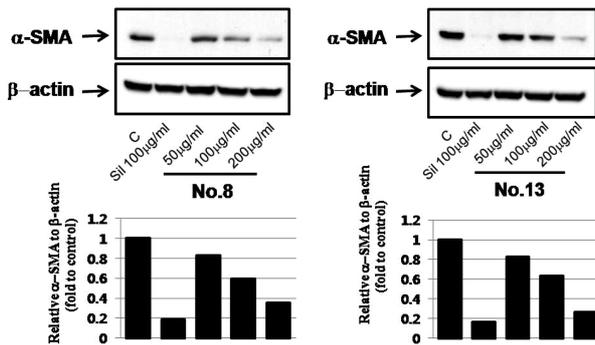


Fig. 2. Western blot analysis of  $\alpha$ -SMA inhibitory activity from certified traditional *doenjang* No. 8, 13. The relative  $\alpha$ -SMA to  $\beta$ -actin was assessed by scanning densitometry and was calculated with density of relative  $\alpha$ -SMA to  $\beta$ -actin.

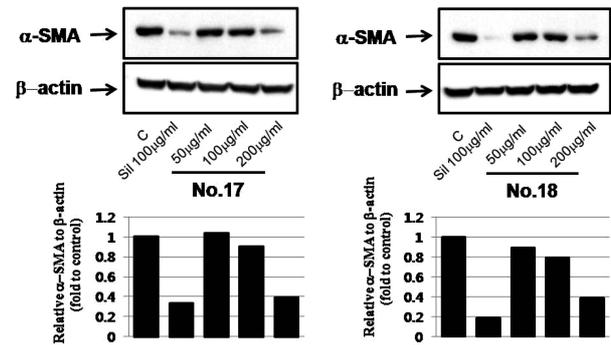


Fig. 3. Western blot analysis of  $\alpha$ -SMA inhibitory activity from certified traditional *doenjang* No. 17, 18. The relative  $\alpha$ -SMA to  $\beta$ -actin was assessed by scanning densitometry and was calculated with density of relative  $\alpha$ -SMA to  $\beta$ -actin.

$\alpha$ -SMA 발현에 전혀 영향을 주지 않는 것으로 나타났지만, 전통식품인증 된장 전체 24 개 중 총 9 개의 된장에서 40% 이상의  $\alpha$ -SMA 억제활성을 가지고 있는 것으로 나타났다(Table 2). 이는 국산재료의 사용에서 오는 여러가지 성분함량과 발효에 관여하는 토착미생물의 발효에 기인한 것으로 예상된다. 된장은 대두로부터 전이된 항산화성분 뿐만 아니라 daidzin, genistein, glycitin-6-O-glucoside, caffeic acid 가 존재하며(Hammerschmidt et al., 1978), 각종 아미노산이 풍부한 것으로 알려져 있는데 그 중 특히 아르기닌과 글리신은 혈청 인슐린을 감소시켜 간에서 콜레스테롤 합성을 감소시키며(Sanchez et al., 1991), LDL(low density lipoprotein)을 제거하여 간내 콜레스테롤 대사와 지단백 대사에 영향을 주는 것으로 보고되고 있다(Carroll et al., 1995).

인스턴트식 공장된장(비교대조군)이 1 주일의 발효기간을 가지는 것과는 달리 전통된장은 6 개월 이상의 발효기간을 거치면서 미생물이 분비하는 protease의 활성에 의해 분해된 각종 아미노산 성분의 함량이 증가하고, 이러한 성분들이 앞서 언급한 기능들을 나타내었을 것이라 추측된다. 그리고 대두의 isoflavones에는 배당체의 함유율이 높지만 발효식품의 경우 비배당체의 함유율이 높은 것으로 알려졌는데(Kim et al., 2005), 생물전환된 비배당체는 체내 흡수뿐만 아니라 약리활성 면에서도 배당체보다 우수한 것으로 알려져 있다(김동현, 2005). 발효에 의해 흡수율이 높아진 비배당체 형태의 isoflavones(genistein, daidzein)에 의해 간 섬유화의 분자지표인  $\alpha$ -SMA의 발현이 억제되었음을 추측할 수 있으며 이는 식물에서 추출된 genistein이 간 조직내 콜라겐을 퇴적시키고 간섬유화의 바이오마커들을 감소시킨다는 최근의 연구결과와도 일치한다(Quanfang et al., 2013). 그리고 여러아미노산중에서 메티오닌(methionine)은 S-adenosylmethionine의 직접적인 전구체로서 간조직내 강력한 항산화물질인 GSH(glutathione)의 합성에 이용되는 것으로 알려져 있다. 이전의 연구에서는 TGF- $\beta$ 와 같은 염증성 사이

토카인과 독성물질(DMN)이  $\alpha$ -SMA의 발현을 유도시키는 것으로 보고되어졌는데(Goldberg et al., 2007; Choi et al., 2009) 이러한 독성물질이 GSH의 항산화작용을 통해 제거된다면  $\alpha$ -SMA의 발현 또한 억제시킬 수 있을 것이라 예상된다.

전북지역에서 수집된 No 17, 18 전통인증 된장 모두 60%이상의  $\alpha$ -SMA 억제활성을 보였으며(Fig. 3) 강원도 지역에서 수집된 No. 8 전통인증 된장은  $\alpha$ -SMA 억제활성이 65%로 두 번째로 높게 나타났으며 발효기간이 2 년인 No. 1 전통인증 된장 또한 50% 이상의 억제활성을 보였다(Fig. 1). 이는 발효기간 이외에도 생물전환에 주체인 발효에 관여하는 미생물 균종과 우점종에 의한 생리활성 차이에서 기인한 것으로 사료된다. No. 13 전통인증 된장의 경우 시료중 가장 긴 2 년 이상의 발효기간을 거치는 동안 다양한 생리활성물질 및 아미노산상의 변화가 있었을 것으로 예상되며 많은 연구에서도 미생물 발효에 의한 생리활성물질의 생성 및 변화와 그에 대한 기능성에 대해 언급하였다(Lee et al., 2013). 따라서 본 실험에 사용된 전통인증 된장의 간 섬유화 억제 효과의 정확한 기작 규명을 위해서는 동물체내에서의 독성물질에 대한 항산화시스템의 각 요소들에 대한 조사는 물론 발효기간의 증가에 따른 기능성의 향상에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 생각된다.

본 연구에서 국내 전통인증 된장을 대상으로 간 섬유화 관련 인자인  $\alpha$ -SMA를 지표로 삼아 간섬유화 억제효과를 최초 보고하는 것이며 이번 실험에서 사용된 전국에서 수집된 전통인증 된장 중 약 38%의 제품에서  $\alpha$ -SMA 억제활성을 보여 간섬유화 억제 기능 소재로서의 활용 가능성을 보였다.

## 요 약

국내 전통식품 인증을 획득한 된장을 대상으로 간 섬유

화 억제를 위한 기능 소재로서의 활용가능성을 알아보고자 하였다. 국내 농산물로만 제조되어진 전통식품인증 된장 총 24 개 제품을 전국에서 수집하여 70% 메탄올로 추출한 다음, MEF 세포주에 처리하여 간섬유화의 지표인  $\alpha$ -SMA의 발현 억제활성을 측정하였다. 공장식 생산과정을 거치는 일반 시판된장과 대조군 대비, 경북지역에서 수집된 No. 13 전통인증된장 추출물이 약 74%의  $\alpha$ -SMA 발현억제활성을 나타내어 뛰어난 간 섬유화 억제활성을 나타내었다. 이는 의약품으로 사용되는 silymarin 84%과 비교시 10% 정도밖에 차이나지 않았으며, 2년 이상의 발효시간을 거친 제품임을 감안할 때 향후 발효시기에 따른 기능성의 향상에 대한 기대도 가능할 것으로 예상된다.

### 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국가농업 R&D 어젠다 연구개발 사업(과제번호: PJ009070)의 일부 연구비 지원으로 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Ahn JB, Park JA, Jo HJ, Woo IH, Lee SH, Jang KI. 2012. Quality characteristics and antioxidant activity of commercial *doenjang* and traditional *doenjang* in Korea. *Korean J. Food Nutr.* 25: 142-148.
- Bae CR, Kwon DY, Cha YS. 2013. Anti-obesity effects of salted and unsalted *doenjang* supplementation in C57BL/6J mice fed with high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 42: 1036-1042.
- Carroll KK, Kurowska EM. 1995. Soy consumption and cholesterol reduction: review of animal and human studies. *J. Nutr.* 125: 594s-597s.
- Choi HK, Pokharel YA, Lim SC, Han HK, Ryu CS, Kim SK, Kwak MK, Kang KW. 2009. Inhibition of liver fibrosis by solubilized coenzyme Q10: role of Nrf2 activation in inhibiting transforming growth factor- $\beta$ 1 expression. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 240: 377-384.
- Chodon D, Ramamurty N, Sakthisekaran D. 2007. Preliminary studies on induction of apoptosis by genistein on HepG2 cell line. *Toxicol. In Vitro* 21: 887-891.
- Goldberg MT, Han YP, Yan C, Shaw MC, Garner WL. 2007. TNF- $\alpha$  suppresses  $\alpha$ -smooth muscle actin expression in human dermal fibroblasts: an implication for abnormal wound healing. *J. Invest. Dermatol.* 127: 2645-2655.
- Hammerschmidt P, Pratt D. 1978. Phenolic antioxidants of dried soybean. *J. Food Sci.* 43: 556-559.
- Hsieh HM, Wu WM, Hu ML. 2010. Genistein attenuates D-galactose-induced oxidative damage through decreased reactive oxygen species and NF- $\kappa$ B binding activity in neuronal PC12 cells. *Life Sci.* 88: 82-88.
- Hsu YW, Tsai CF, Chen WK, Lu FJ. 2009. Protective effects of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice. *Food Chem. Toxicol.* 47: 2281-2288.
- Ji G, Yang Q, Hao J, Guo L, Chen X, Hu J, Leng L, Jiang Z. 2011. Antiinflammatory effect of genistein on non-alcoholic steatohepatitis rats induced by high fat diet and its potential mechanisms. *Inter. Immunopharmacol.* 11: 762-768.
- Josep ML, Sergio R, Vincenzo M, Philip H, Edward G, Jean-Frédéric B, Andre CO, Armando S, Jean-Luc R, Alejandro F, Myron S, Camillo P, Stefan Z, Luigi B, Tim FG, Peter RG, Jean-François S, Ivan B, Dieter H, Tom G, Minghua S, Marius M, Dimitris V, Jordi B. 2008. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *The New England J. Med.* 359: 378-390.
- Kim JJ, Kim SH, Hahn SJ, Chung IM. 2005. Changing soybean isoflavone composition and concentrations under two different storage conditions over three years. *Food Res. Int.* 38: 435-444.
- Korea Food and Drug Administration. 2011. Korean Food Standards codex. Korea Food And Drug Administration, Seoul, Korea. pp. 5-20.
- Kwon SK, Lee KB, Im KS, Kim SO, Park KY. 2006. Weight reduction and lipid lowering effects of Korean traditional soybean fermented products. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35: 1194-1199.
- Kuzu N, Metin K, Dagli AF, Akdemir F, Orhan C, Yalniz M, Ozercan IH, Sahin K, Bahcecioglu IH. 2007. Protective role of genistein in acute liver damage induced by carbon tetrachloride. *Mediat. Inflamm.* 1: 363-381.
- Lee KS. 2006. Hepatic fibrogenesis. *Korean J. Gastroenterol.* 48: 297-305.
- Lee SI, Kim DS, Lee YK, Kim MJ, Lee IA, Choi JK, Suh JW. 2013. Dietary effects of black bean fermented by *Monascus pilosus* on body weight, serum lipid profiles and activities of hepatic antioxidative enzymes in mice fed high fat diets. *Korean J. Nutr.* 46: 5-14.
- Lee SY, Kim IS, Park SL, Lim SI, Choi HS, Choi SY. 2012. Antidiabetic activity and enzymatic activity of commercial *doenjang* certificated for traditional foods. *Korea Soc. Biotech. Bioeng. J.* 27: 361-366.
- Lim SY, Park KY, Lee SH, Choi JS. 2007. Inhibitory effect of methanol extracts and solvent fractions from *meju* on mutagenicity and growth of human cancer cells. *J. Life Sci.* 17: 76-81.
- Lim SY, Rhee SH, Park KY. 2004. Inhibitory effect of methanol extract of *doenjang* on growth and DNA synthesis of human cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33: 936-940.
- McGee J, Patrick R. 1972. The role of perisinusoidal cells in hepatic fibrogenesis. *Lab. Invest.* 26: 429-440.
- Quanfang H, Renbin H, Shijun Z, Jun L, Ling W, Min H, Lang Z, Xing L. 2013. Protective effects of genistein isolated from *Hydrocotyle sibthorpioides* on hepatic injury and fibrosis induced by chronic alcohol in rats. *Toxicol. Lett.* 217: 102-110.
- Sanchez A, Hubbard RW. 1991. Plasma amino acids and the insulin/glucagon ration as an explanation for the dietary protein modulation of atherosclerosis. *Med. Hypotheses* 35: 324-329.
- Song SK, Kim KH, Kim HS. 2001. Cytotoxic effects and components of lipid fractions from soybean products on cancer cell lines. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 1266-1271.
- Statistics Korea 2012. 2011 Annual Report on the Cause of Death Statistics. Seoul, Korea. p. 8.
- Surh YJ. 2003. Cancer Chemoprevention with dietary phytochemi-

- cals. *Nat. Rev. Cancer.* 3: 768-780.
- Tanaka N, Kono H, Ishii K, Hosomura N, Fujii H. 2009. Dietary olive oil prevents carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in mice. *J. Gastroenterol.* 44: 983-990.
- Valsecchi AE, Franchi S, Panerai AE, Rossi A, Sacerdote P, Coleoni M, 2011. The soy isoflavone genistein reverses oxidative and inflammatory state, neuropathic pain, neurotrophic and vasculature deficits in diabetes mouse model. *Eur. J. Pharmacol.* 650: 694-702.
- Zou YH, Yang Y, Li j, Wu Q, Li WP, Lu JT. 2008. Potential therapeutic effects of a traditional Chinese formulation, BJ-JN, on liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *J. Ethnopharmacol.* 120: 452-457.
- 김동현. 2005. *인삼과 건강. 도서출판 효일. 서울, pp 29-47.*