

Lactobacillus fermentum H9를 이용하여 발효한 Maillard 반응 생성물의 동물 모델에서의 저지질혈증과 항염증 효과

오남수^{1,*} · 고지훈² · 박미리² · 김세현²

¹서울우유 R & D센터, ²고려대학교 생명공학과

Hypolipidemic and Antiinflammatory Effects of Fermented Maillard Reaction Products by *Lactobacillus fermentum* H9 in an Animal Model

Nam Su Oh^{1,*}, Ji Hoon Koh², Mi Ri Park² and Sae Hun Kim²

¹R & D Center, Seoul Dairy Cooperative, Ansan, Korea

²Division of Biotechnology, College of Life Science and Biotechnology, Korea University, Seoul, Korea

Abstract

This study examined the effects of Maillard reaction products reacted by casein and lactose (cMRP) and of cMRP fermented by *Lactobacillus fermentum* H9 (FcMRP) on hypolipidemic and anti inflammatory effects in rats fed a high-fat and high-cholesterol diet (HD). The HD-fed rats had significantly increased hepatic triglyceride concentrations compared with the rats fed a normal diet. It was shown that treatment with simvastatin, *L. fermentum* H9 (H9), cMRP, F-cMRP decreased total triglycerides in the liver compared with the HD group. On histological analysis, a reduction of lipid accumulation in the liver and aortic tissues was observed in the cMRP, F-cMRP, and H9-fed rats. Also, F-cMRP and cMRP reduced intima-media thickness in the HD group. In addition, the H9, cMRP, F-cMRP treatments significantly reduced the expression levels of ICAM-1 and VCAM-1, but not of MCP-1. In particular, the expressions of ICAM-1 and VCAM-1 were significantly decreased in the F-cMRP group compared with the HD group. These results of the present study suggest that cMRP and F-cMRP in dairy foods could potentially be used to prevent or treat cardiovascular diseases, especially atherosclerosis.

Keywords

hypolipidemic and antiinflammatory effect, Maillard reaction product, *Lactobacillus fermentum*, reverse transcription-PCR, rat animal model

Received: Dec 16, 2016

Revised: Dec 20, 2016

Accepted: Dec 23, 2016

* Corresponding author :

Sae Hun Kim

College of Life Sciences and
Biotechnology, Korea University,
Seoul, 02841, South Korea.

Tel: +82-10-9071-3055,

Fax: +82-2-3290-3506

E-mail: saehkim@korea.ac.kr

서 론

심혈관계 질환은 세계적인 사망률 및 이환율의 주요 원인이다. 고 콜레스테롤 혈증은 심혈관계 질환에 영향을 미치는 주요 위험 요인 중 하나로 확립되어 왔고, Framingham 연구는 혈장 콜레스테롤의 1

% 증가가 관상 동맥 심장 질환 발병률의 2 % 증가와 동일하다고 보고했다(Jeon *et al.*, 2007). 증가된 혈청 저밀도 지단백 콜레스테롤 수치와 감소된 고밀도 지단백 콜레스테롤 수치는 CVD, 특히 관상동맥 죽상 경화증에 수반되는 가장 중요한 요인으로, 염증과 내피 기능과 혈관의 병변 감소로 이어진다(Ross, 1993). 고지혈증은 지질과 지단백대사의 이상에 의해 특징 지어지는 만성 신진 대사 장애이다. 이는 죽상 동맥 경화증 및 고혈압과 같은 많은 합병증을 유발할 수 있다(Lattanzio and Petrella, 2000). 몇몇의 보고서는 고지혈증을 위한 발효 버섯 우유와 죽상 동맥 경화증을 위한 발효 유/두유와 같은, 발효된 화합물이 고지혈증 및 염증에 미치는 영향을 연구했다(Jeon *et al.*, 2004; Tsai *et al.*, 2009)를 연구했다. 아미노그룹과 환원당 사이에서의 화학 반응인 마일라드 반응은 품질에 강하게 영향을 주기 때문에 식품에 중요하다(Van Boekel, 1998). 마일라드 반응 생성물(MRP)은 화학적 환원을 통한 열처리 과정에서 식품에 자연적으로 생성된다(Hwang *et al.*, 2011). 우유의 경우, 아미노 그룹은 주로 유단백질의 리신 잔여물이다(Walstra and Jenness, 1984). 최근에 항지질성 과산화, 항산화 작용, 항균 작용과 같은 유 단백질과 당으로부터 유래된 MRP의 생리학적 효과에 대한 여러 연구가 많이 있어 왔다(Rufián-Henares and Morales, 2007, Gu *et al.*, 2009).

만성적인 인간 질환을 예방하고, 일반적인 건강을 유지하기 위한 물질로서, 생리활성 펩타이드를 포함하는 유제품 가수 분해물의 사용에 대한 관심이 증가하고 있다. 유 단백질의 생리활성 펩타이드는 효소 단백질 분해, 위장 소화 또는 식품 가공에 의해 방출될 수 있다. 이러한 펩타이드들은 미네랄 칼슘의 흡수를 돕는 것 외에도 항균 작용, 항 고혈압 작용, 항 혈전 작용, 면역 조절 특징 및 오피오이드 특성을 포함하는 넓은 범위의 특성들을 가지고 있다(LeBlanc *et al.*, 2002).

다양한 프로바이오틱스 균주는 단백질 분해의 활성을 가지고, 프로바이오틱스 발효를 통한 유단백질 가수분해물은 다양한 생물학적 기능을 가진다. 다른 lactic acid bacteria에 비해 강한 단백질 분해와 펩티데이스 활성을 가지는 *Lactobacillus helveticus* R389에 의해 발효된 우유는 항 돌연변이성 효과를 가지는 물질을 생성해낼 수 있는 반면, 단백질 분해 능력이 결핍된 유도체는 이러한 효과를 가지지 않는 것으로 나타났다(Matar *et al.*, 1997). 다른 연구에서는 *L. helveticus* CP790이 카제인 가수분해 산물로부터 항 고혈압활성을 가진 펩티드를 분리할 수 있다는 결과가 나왔다(Yamamoto *et al.*, 1994). 우유 단백질의 효소적 미생물적 검사는 자세하게 검사되었지만(Ha *et al.*, 2015), 다양한 심혈관 보호적 효과를 가지는 우유 유래 펩티드 MRP의 가수분해에 대해

서는 아직 자세히 연구되지 않았다. 이번 연구에서 우유의 생물학적 특성과 항산화적인 활성은 Maillard 반응과 효소적 가수분해(상업적 단백질 분해효소 Alcalase, Neutrase, Protamex 그리고 Flavorzyme; Oh *et al.*, 2013)에 의해서 향상되었음을 보였다. 더욱이, 이전의 체외와 체내 연구에서 우유 단백질에서 생산된 MRP와 *Lactobacillus gasseri* H10과 *L. fermentum* H9에 의해 발효된 MRP가 항트롬빈 효과와 항심혈관 활성을 보이는 것을 알아보았다(Oh *et al.*, 2014, 2015). 본 연구진의 이전 연구 결과를 바탕으로 이번 연구의 목적은 동물모델에서 MRP와 발효된 MRP가 심혈관계 염증 척도, 특히 죽상 동맥경화증에 가지는 효과를 검사하고 확인하는 것이다.

재료 및 방법

MRP 발효물 준비

MRP는 카제인과 lactose의 반응으로서 형성되었으며(cMRP), *Lactobacillus fermentum* H9에 의해 발효된 생산물(F-cMRP)은 Oh *et al.* (2015)에 의해 보고된 것과 부합되게 준비되었다. 간단하게, cMRP는 sodium caseinate와 lactose를 55°C에서 shaking water bath에서 하룻 동안 배양되어 준비되었으며, 광범위하게 투석된 후 반응 혼합물은 동결건조 되었다. cMRP의 발효는 3% cMRP, 2% glucose, 다양한 미네랄과 이스트 추출물 펩톤 단백질과 같은 적은 양의 질소 원천을 37°C에서 48시간 동안 진행된 MRP 미디엄에서 발효로 만들어졌다. 발효 이후 MRP 배지의 상등액은 동결건조되었다.

동물실험과 처리군 준비

총 30마리의 Sprague-Dawley 쥐 [Sam-TacN(SD)BR, Samta-ko, Kyunggi, Korea]는 5주령일 때 얻어졌다(최초의 무게 150 g). 동물들은 개별적으로 mesh-bottom stainless-steel 케이지 안에서 키워졌으며, 온도는 23±2°C로 유지되었고, 12시간 암행 주기로 기준을 두었다. 쥐 무게의 평균적 차이는 6그룹간 차이는 없었다. 랫드는 식수에는 자유롭게 접근할 수 있었다. 3일간의 적응 기간이 끝난 후, 랫드는 2 group으로 나뉘었다. 5마리의 랫드는 일반식을 먹었고(Normal Diet, ND), 25마리는 High Fat & High Cholesterol Diet(HD) 식이를 먹었다. 2주간 Normalization 기간을 거친 후, HD group은 각각 다른 처리를 위해 5 group으로 한 번 더 나뉘었다. Group 1에는 HD 식이만, Group 2에는 HD 식이에 심혈관 치료에 사용되는 대표적인 약물인 simvastatin(SV)를 함께 사용하여 positive control로 이용되었다.



Group 3에는 HD와 *L. fermentum* H9균주를 함께 처리하였고 (H9), Group 4에는 카제인과 락토오스에 반응한 MRP(cMRP)를 HD와 함께 처리하였다. 마지막으로 Group 5에는 *L. fermentum* H9에 의해 발효된 cMRP(F-cMRP)를 HD와 함께 식이하였다. 총 5 가지의 treatment group이 normalization 이후에 6주간 실험용 식이를 급여하였다. HD는 20%(wt/wt)의 지방과 0.5%(wt/wt)의 콜레스테롤을 함유하며, 실험용 사료로 쓰인 Group 2, 3, 4, 5의 식이에는 simvastatin이 30 mg/day, freeze dried cells 1.4×10^8 cfu/d, cMRP 15,000 mg/kg per day, and F-cMRP 15,000 mg/kg per day가 순차적으로 투여되었다. 실험용 랫드의 사료섭취량과 몸무게 증가량은 주단위로 기록이 되었고, 모든 실험 절차는 충북대학교 실험동물위원회의 승인을 받았다.

간 조직에서의 유전자 발현량 측정

간 조직의 중성지방 측정을 위해 350~400 mg의 간 조직이 lysis buffer(1% NP-40, 50 mmol/L Tris-base, 0.1% SDS, 0.5% deoxycholic acid, 150 mmol/L NaCl, pH 7.5)와 protease inhibitor에 의해 분쇄되었다. 이 샘플은 10분간 4℃에서 $10,360 \times g$ 로 원심 분리되었다. 중성지방은 비색측정법 키트(Cayman-Chemical, Ann Arbor, MI)를 이용하여 설명서에 따라 측정되었다. 대동맥조직은 RNA 추출이 이루어지기 전까지 절개 후에 바로 RNAlater(Qiagen, Mississauga, ON, Canada)에 넣어진 후 바로 -20℃에 보관되었다. Total RNA 역시 GeneJET RNA Purification Kit (Fermentas, Burlington, ON, Canada)를 이용해 설명서에 적힌 방법을 이용하여 추출하였다. Final RNA는 광학밀도를 260 nm에서 NanoDrop2000 spectrophotometer(NanoDrop Technologies Inc., Wilmington, DE)를 이용하여 결정되었다. 그 이후에, 2 ug의 total RNA와 cDNA synthesis(Le-Gene Biosciences, San Diego, CA)를 이용하여 50분간 45℃에서 cDNA 합성이 진행되고, 85℃에서 5분간 incubation 되었다. Table 1에는 reverse-transcription-PCR에 사용된 primer의 목록표이다. PCRproduct는 1.5%의 agarose gel에 의해 분해되었고, ethidium bromidestaining에 의해 시각화 되었다. 각각의 pcr 밴드의 강도는 gel의 densitometric analysis를 Kodak DC290 zoom digital camera와 Kodak 1D image analysis software (Eastman Kodak Company, Rochester, NY), 그리고 ImageJ software (NIH Image, Bethesda, MD)를 이용하여 측정되었다. 각각 유전자의 발현량은 housekeeping gene(β -actin)에 의거하여 normalize 되었다.

조직학적 분석 및 조직염색

조직학적 분석은 각각의 쥐의 간과 대동맥을 샘플링한 후 진행되었다. 샘플들은 10%의 포르말린에 넣은 후 에탄올로 탈수시키고, 파라핀에 넣은 뒤 굳혔다. 조직을 넣은 파라핀 조각들은(2 μ m 두께)로 자른 뒤 헤마톡실린 & 에오신 염색을 진행하였다. 조직을 고정시킨 후 20%의 수크로오스 용액이 스며들게 4℃에서 하룻밤 동안 처리하였다. 슬라이드글라스에 놓는 조직은 10%(vol/vol) PBS가 베이스인 포름알데하이드에 23℃에서 한시간 동안 고정시킨 후, 물로 두 번 수세 뒤 75%(vol/vol)의 이소프로판올에 0.1%(wt/vol)의 Oil Red O를 넣어 염색을 진행하였다. 두 시간 뒤에 염색된 조직은 스며들지 않은 염료 제거를 위해 물로 두 번 수세하였다. 조직분석은 Olympus CH 30 microscope(Olympus Corp, Tokyo, Japan)을 이용하여 진행하였다.

통계학적 분석

모든 실험과 결과들은 SPSS Inc. software(version 12.0, SPSS Inc, Chicago, IL)를 이용하여 통계처리를 하여 분석되었고, 그룹 간의 차는 Duncan's test에 따라 one-way ANOVA를 이용하여 통계적인 유의수준(P<0.05)을 통해 평가하였다.

결과 및 고찰

컨트롤 그룹과 실험군의 간에서의 TG 농도는 고지방 식이를 한 쥐는 보통 식이를 한 쥐와 비교 시간에서의 TG농도가 유의적으로 증가하였다. 이것은 SV, H9, cMRP 그리고 F-cMRP (121.1 ± 11.4 , 133.6 ± 12.4 , 98.4 ± 15.7 , and 87.7 ± 10.7 mg/g of tissue, respectively)를 각각 처리 시에 고지방식이 그룹(177.8 ± 29.6 mg/g of tissue)과 비교 시 총 TG의 농도를 유의적으로 감소시킨다는 것을 보여준다. 실험군 중 F-cMRP 그룹은 특히 간의 지방농도를 고지방식이 그룹과 비교 시 50%나 줄였을 정도로 유의적인 감소를 나타내었고, 반면에 고지방 식이 그룹은 보통 식이그룹과 비교 시 190%가 증가하였다. 이러한 결과는 발효된 두유를 투여 시 1~5주 동안 지속적으로 플라즈마의 TG양이 감소된다는 내용의 Kobayashi *et al.*(2012)의 결과와 비슷하다. 플라즈마에서의 TG양의 감소는 간 무게의 감소, 간에서의 콜레스테롤, TG양의 감소를 야기한다. 그러므로 F-cMRP의 처리는 지방 축적에 의한 간 손상을 예방할 것으로 예상된다.

다음, 6가지의 다른 식이를 한 쥐로부터 얻은 간 조직들은 조직학적으로 분석되었고, 염색된 조직들은 광학현미경에 의해 분석되었다. H9, cMRP 그리고 F-cMRP의 처리는 지방 축적의 진행과 간 지방증으로부터의 간 보호 효과는 헤마톡실린 & 에오신 염색에 의

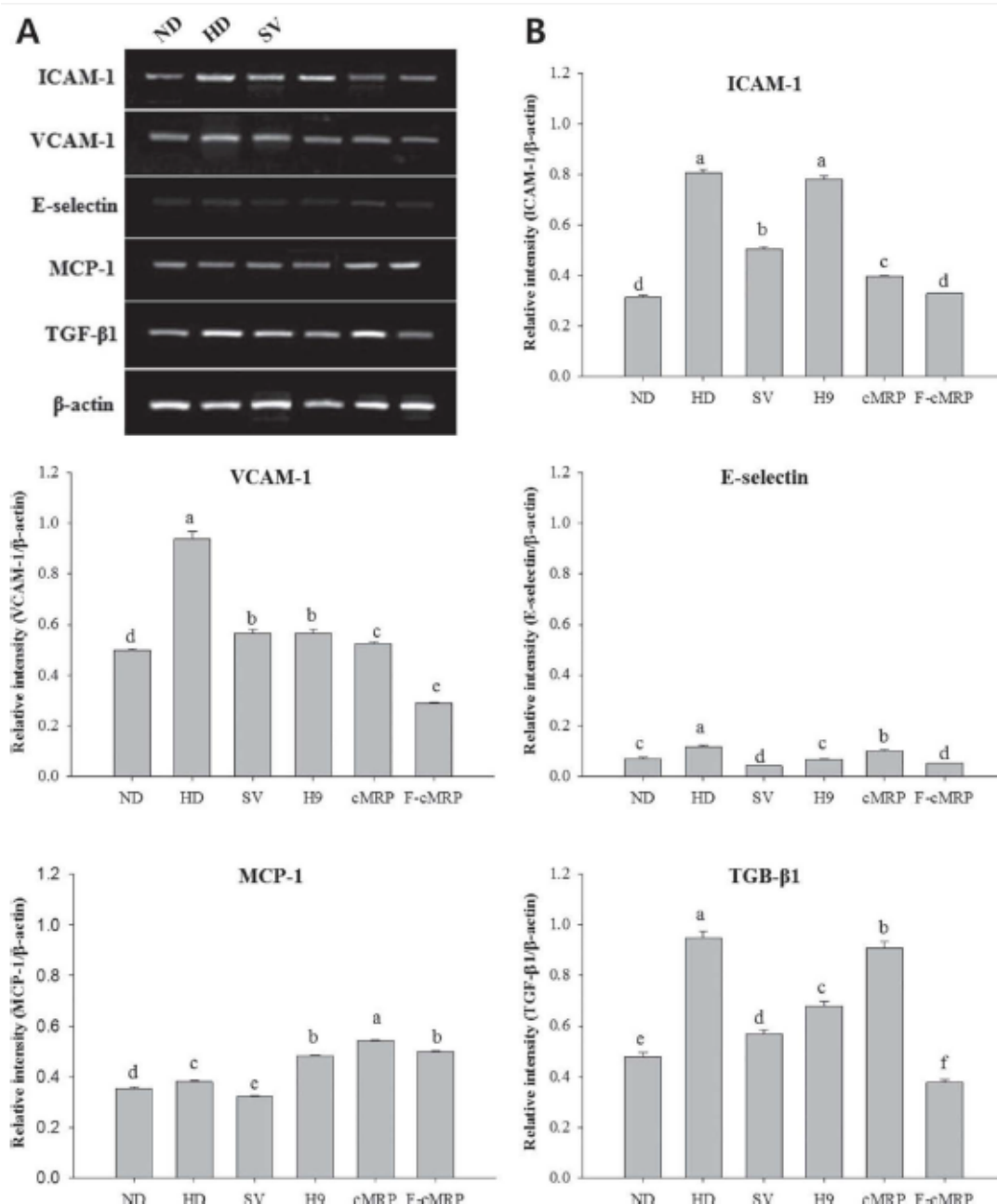


Fig. 2. (A) Gel intensity and (B) relative mRNA expression levels related to inflammation in aorta. The mRNA expressions were measured by reverse transcription-PCR. The quantitative analysis of relative intensities was performed by using ImageJ software (National Institutes of Health, Bethesda, MD). β -Actin signals were used for the normalization. Values are means \pm SD, n=3. Mean values in the column with different letters (a ~ f) are significantly different as determined by Duncan's multiple range tests ($p < 0.05$). ND=normal diet; HD=high fat and cholesterol diet; SV=HD+simvastatin; H9=HD+*Lactobacillus fermentum* H9; cMRP=HD+Maillard reaction products (MRP) reacted by casein and lactose; F-cMRP=HD+cMRP fermented by *L. fermentum* H9. This figure was reprinted with permission of publisher.

해 입증되었다. Fig. 1B에서는 고지방 식이를 한 그룹의 쥐의 간 조직은 보통 식이를 진행한 그룹의 쥐의 간 조직과 비교 시 지방

방울의 크기와 수가 많은 것으로 보아 명백한 지방 축적을 보였다. 덧붙여, 고지방 식이를 한 그룹의 간 조직은 큰 지방성 변화, 공기

주입법 변성 그리고 세포 경계의 손실을 보였다. H9, cMRP 그리고 F-cMRP의 처리는 SV그룹에서의 결과와 비슷하게 이와 같은 결합이 있는 세포현상을 완화시킬 수 있다고 보여진다. H9, cMRP 그리고 F-cMRP의 처리를 한 뒤, 간 조직에서는 지방 방울과 지방 축적에서 주목할 만한 감소가 관찰되었다. 그 결과, 모든 실험군의 쥐의 간은 처리되지 않은 그룹과 비교 시에 고지방 그리고 고콜레스테롤에 의해 유도된 간 손상에 대한 뚜렷한 치료효과가 있는 것

으로 보이고, 이것은 전의 실험결과와도 일맥상통하는 것으로 보인다(Chen *et al*, 2012).

추가적으로, 대동맥에 있는 염증성 유전자의 전사조절적 레벨은 (RT)-PCR에 의해 분석되었다. 고지방식이 그룹은 intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), and monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)이 보통식이 그룹과 비교했을 때 상향 조절되었고, 반면에

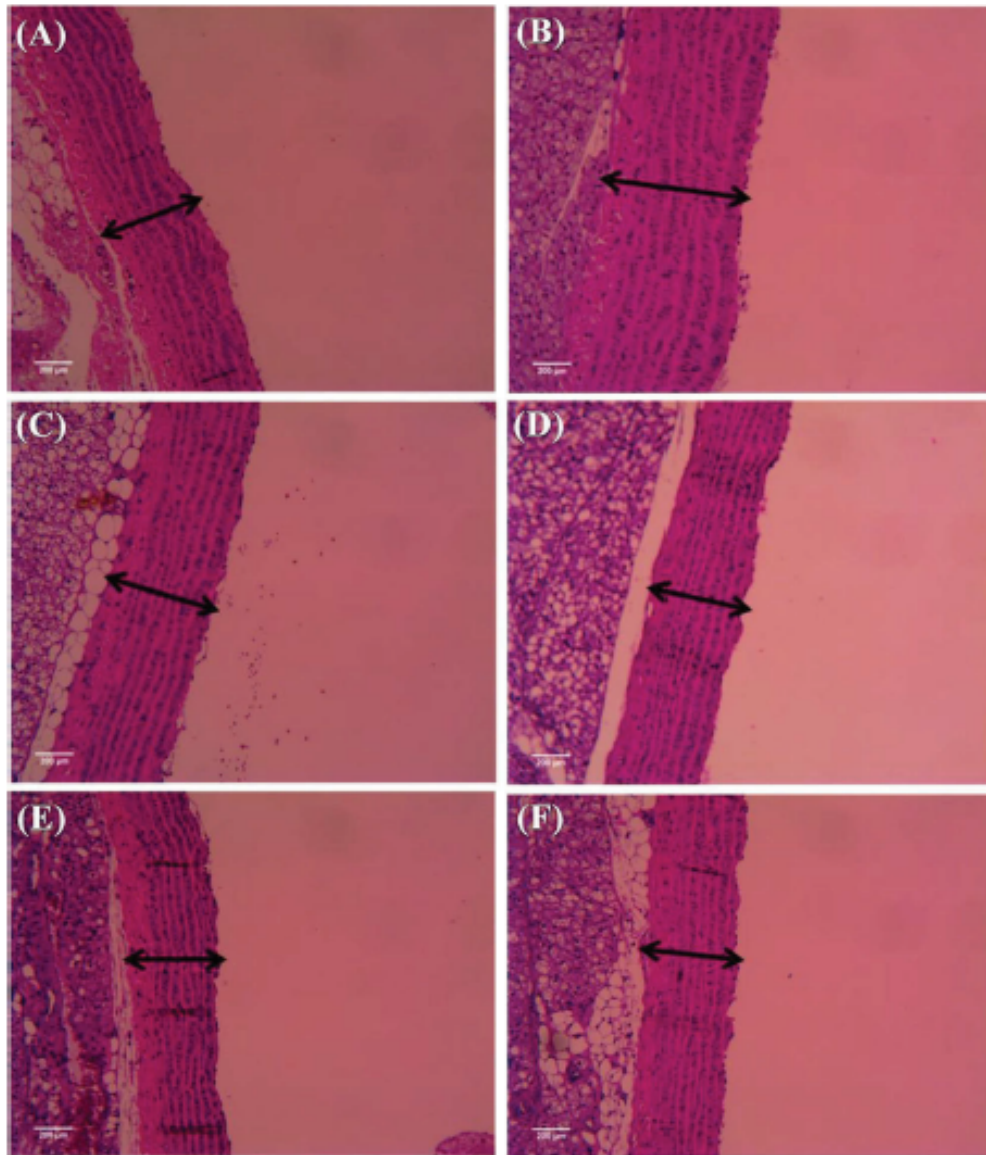


Fig. 3. Rat aorta tissues stained with hematoxylin and eosin assay (magnification 100^x~). Aorta tissue sections prepared from (A) normal diet (ND), (B) high fat and cholesterol diet (HD), (C) HD+simvastatin (SV), (D) HD+*Lactobacillus fermentum* H9 (H9), (E) HD+Maillard reaction products (MRP) reacted by casein and lactose (cMRP), and (F) HD+cMRP fermented by *L. fermentum* H9 (F-cMRP). The arrows indicate the intimal thickness of each group and the scale bar represents 200 μ m. This figure was reprinted with permission of publisher.

H9, cMRP 그리고 F-cMRP의 처리는 ICAM-1 그리고 VCAM-1의 발현이 유의적으로 감소하였다(Fig. 2).

F-cMRP를 처리한 결과, ICAM-1과 VCAM-1에서 유의적 감소를 나타내었다(Fig. 2). ICAM-1과 VCAM-1에서 F-cMRP가 HD와 비교했을 때 감소(59.1 and 69.1%) ($p < 0.05$). 고 콜레스테롤증에서는 산화된 저밀도 지질단백질이 염증성 cascade를 통해 내피세포의 사이토카인과 케모카인을 자극할 수 있다.

종양괴사 관련 인자인 IL-1 β , IL-6, and IL-8. 동시에 MCP-1, ICAM, VCAM 이 염증성 인자들은 분자에 부착되어 자극할 수 있다. 이들 유전자는 백혈구 집단과 부착에 관여해 내피세포에서 백혈구와 혈소판의 부착성을 증가시킬 수 있다. 또한 평활근의 증식을 자극하고 동맥 내부를 두껍게 하여 죽상동맥 경화증을 악화할 수 있다. 게다가 염증성인자들은 형질 전환 인자 factor- β 1에 의해 내피세포의 유착을 유도할 수 있다. TGF- β 1은 pro-fibrotic사이토카인으로 혈관 외부 기질에 관여하여 당뇨병과 연관된 죽상동맥경화증을 유도할 수 있다. 마찬가지로 ICAM-1과 VCAM-1이 감소되었고, TGF- β 1은 F-cMRP를 해했을 때, HD그룹과 비교해 유의적인 감소를 보였다. 염증은 죽상동맥 경화증의 시작과 진행에 큰 영향을 미치는 것을 확인하였다. 그러므로 H9, cMRP, and F-cMRP에서 유의적인 감소를 나타난 대동맥 염증관련 인자 ICAM-1, VCAM-1, TGF- β 1를 볼 수 있었다. 조직 병리학적 변화를 보기 위해 동맥을 H & E 염색법을 하여 관찰하였다. 그 결과는 Fig. 3을 볼 수 있었다.

H9, cMRP, F-cMRP에서 IMT를 HD 그룹과 비교해 보았다. 그 결과는 고콜레스테롤 식이를 해준 그룹에서 두꺼운 내막과 큰 lumen의 plaques 그리고 더 깊은 곳의 약간의 변화를 확인하였다. 죽상경화증의 병변은 실제로 복부 대동맥에서부터 시작되는 것을 볼 수 있었다. 대동맥의 IMT는 죽상동맥경화의 정도를 확인하는데 유용한 지표였다. H9, cMRP, F-cMRP의 처리는 죽상동맥경화증의 진행을 완화시킬 수 있었고, 특히 F-cMRP 그룹에서 큰 효과의 IMT의 감소를 보였다. 이 결과는 mRNA 결과에서도 확인되었다. 추가적으로 MF27, cMRP, F-cMRP를 처리했을 때, 동맥의 지질 축적을 막는 것을 oil red o staining을 통해 확인하였다. 그림 4를 보면 고 콜레스테롤 식이를 해준 쥐의 동맥에는 지질의 축적이 적은 것을 볼 수 있다. 모든 그룹이 지질 축적이 감소한 것을 확인할 수 있다. 이 결과는 H & E 염색으로도 볼 수 있다. 결론적으로, 우리는 발효 MRP와 H9 균을 유제품에 적용하여 고지혈증과 항염증 모델에 처리해 줬을 때, 만성대사 장애와 심혈관 관련 질병의 위험을 감소시킬 수 있다는 결과를 얻었다.

요약

이 연구는 고지방 및 고 콜레스테롤식이(HD)를 먹인 rat에서의 저지혈혈증 및 항염증 효과에 영향을 미치는 카제인과 유당(cMRP) 그리고 락토바실러스 fermentum H9 (FcMRP)에 의해 발효된 cMRP에 의해 반응된 마이라드 반응 생성물의 효과를 조사했다. HD 식이를 실시한 rat은 정상적인 식이를 먹인 rat과 비교했을 때, 간의 트리글리세리드 농도가 유의적으로 증가했다. 이는 HD 그룹에 비해서 Simvastatin, *L. fermentum* H9(H9), cMRP, F-cMRP의 처리기간의 총 트리글리세리드를 감소시킨 것으로 나타났다. 조직학적 분석에서 cMRP, F-cMRP 및 H9-를 먹인 rat에서 간과 대동맥 조직의 지질 축적이 감소한 것으로 관찰되었다. 또한, F-cMRP와 cMRP는 HD 그룹에서 내중막 두께를 감소시켰다. 게다가 H9, Cmrp, F-cMRP 처리는 ICAM-1 및 VCAM-1의 발현 수준을 유의적으로 감소시켰지만, MCP-1의 발현 수준은 유의하게 감소시키지 못했다. 특히, ICAM-1과 VCAM-1의 발현은 HD 그룹에 비해 F-cMRP 그룹에서 유의적으로 감소했다. 이 연구 결과는 낙농 식품의 cMRP와 F-cMRP가 심혈관계 질환, 특히 죽상 동맥 경화증을 예방하거나 치료하는데 잠재적으로 사용될 수 있음을 시사한다.

감사의 글

Journal of Dairy Science (99:9415-9423, 2016; <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11286>)에 게재된 결과를 사용하도록 허가해준 Elsevier (License Number: 402346047583)에 감사드리며, 자세한 내용은 원문을 참조하길 바란다.

References

1. Chen J, Mao D, Yong Y, Li J, Wei H, and Lu L (2012) Hepatoprotective and hypolipidemic effects of water-soluble polysaccharidic extract of *Pleurotus eryngii*. *Food Chem.* **130**, 687-694.
2. Couturier G, Voustanouk A, Weinberger J, and Fuster V (2006) Correlation between coronary artery disease and aortic arch plaque thickness measured by non-invasive B-mode ultrasonography. *Atherosclerosis.* **185**, 159-164.
3. Gu F, Kim JM, Hayat K, Xia S, Feng B, and Zhang X (2009) Characteristics and antioxidant activity of ul-



- trafiltrated Maillard reaction products from a casein-glucose model system. *Food Chem.* **117**, 48-54.
4. Ha GE, Chang OK, Han GS, Ham JS, Park BY, and Jeong SG (2015) Comparison of antioxidant activities of hydrolysates of domestic and imported skim milk powders treated with papain. *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.* **35**, 360-369.
5. Hwang IG, Kim HY, Woo KS, Lee J, and Joeng HS (2011) Biological activities of Maillard reaction products (MRPs) in a sugar-amino acid model system. *Food Chem.* **126**, 221-227.
6. Jarvisalo MJ, Jartti L, Nanto-Salonen K, Irjala K, Ronnema T, Hartiala JJ, Celermajer DS, and Raitakari OT (2001) Increased aortic intima-media thickness: A marker of preclinical atherosclerosis in high-risk children. *Circulation.* **104**, 2943-2947.
7. Jeon BS, Cho YS, Park JW, Shin GG, Kim BK, Kim H. K, and Cha JY (2004) Effect of Fermented mushroom milk on hyperlipidemia and hepatic injury in streptozotocin-induced diabetic and Zucker diabetic fatty rats. *Korea Agricultural Science Digital Library.* **13**, 576-580.
8. Jeon SM, Kim HK, Kim HJ, Do GM, Jeong TS, Park YB, and Choi MS (2007) Hypocholesterolemic and anti-oxidative effects of naringenin and its two metabolites in high-cholesterol fed rats. *Transl. Res.* **149**, 15-21.
9. Kobayashi M, Hirahata R, Egusa S, and Fukuda M (2012) Hypocholesterolemic effects of lactic acid-fermented soymilk on rats fed a high cholesterol diet. *Nutrients.* **4**, 1304-1316.
10. Kolachala VL, Bajaj R, Wang L, Yan Y, Ritzenthaler JD, Gewirtz AT, Roman J, Merlin D, and Sitaraman SV (2007) Epithelial-derived fibronectin expression, signaling, and function in intestinal inflammation. *J. Biol. Chem.* **282**, 32965-32973.
11. Lattanzio CN, and Petrella RJ (2000) The prevalence of hypertension and metabolic clustering (hyperlipidemia and hyperinsulinemia) in healthy older adults. *Am. J. Hypertens.* **13**:101.
12. LeBlanc J, Matar C, Valdez J, LeBlanc J, and Perdigon G (2002). Immunomodulating effects of peptidic fractions issued from milk fermented with *Lactobacillus helveticus*. *J. Dairy Sci.* **85**:2733-2742.
13. Lee, WR, Kim SJ, Park JH, Kim KH, Chang YC, Park YY, Lee KG, Han SM, Yeo JH, and Pak SC (2010) Bee venom reduces atherosclerotic lesion formation via anti-inflammatory mechanism. *Am. J. Chin. Med.* **38**, 1077-1092.
14. Matar C, Nadathur SS, Bakalinsky AT, and Goulet J (1997) Antimutagenic effects of milk fermented by *Lactobacillus helveticus* L89 and a protease-deficient derivative. *J. Dairy Sci.* **80**, 1965-1970.
15. Moineau S, and Goulet J. 1991. Effect of fermented milks on humoral immune response in mice. *Int. Dairy J.* **1**, 231-239.
16. Oh NS, Kwon HS, Lee HA, Joung JY, Lee JY, Lee K B, Shin YK, Baick SC, Park MR, Kim Y, Lee KW, and Kim SH (2014) Preventive effect of fermented Maillard reaction products from milk proteins in cardiovascular health. *J. Dairy Sci.* **97**, 3300-3313.
17. Oh NS, Lee H, Lee J, Joung J, Lee K, Kim Y, Lee KW, and Kim SH (2013) The dual effects of Maillard reaction and enzymatic hydrolysis on the antioxidant activity of milk proteins. *J. Dairy Sci.* **96**, 4899-4911.
18. Oh NS, Park MR, Lee KW, Kim SH, and Kim (2015) Dietary Maillard reaction products and their fermented products reduce cardiovascular risk in an animal model. *J. Dairy Sci.* **98**, 5102-5112.
19. Pham Y, Tu Y, Wu T, Allen TJ, Calkin AC, Watson AM, Li J, Jandeleit-Dahm KA, Toh BH, Cao Z, Cooper ME, and Chai Z (2010) Cell division autoantigen 1 plays a profibrotic role by modulating downstream signalling of TGF- β in a murine diabetic model of atherosclerosis. *Diabetologia.* **53**, 170-179.
20. Renju G, Kurup GM, and Kumari CS (2014) Effect of lycopene from *Chlorella marina* on high cholesterol-induced oxidative damage and inflammation in rats. *Inflammopharmacology.* **22**, 45-54.
21. Ross R (1993) The pathogenesis of atherosclerosis: A perspective for the 1990s. *Nature* **362**:801-809. Ross,

- R. 1999. Atherosclerosis-An inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* **340**,115-126.
22. Rufian-Henares JA, and Morales FJ (2007). Functional properties of melanoidins: *In vitro* antioxidant, antimicrobial and antihypertensive activities. *Food Res. Int.* **40**, 995-1002.
23. Tribolo S, Lodi F, Connor C, Suri S, Wilson VG, Taylor MA, Needs PW, Kroon PA, and Hughes DA (2008) Comparative effects of quercetin and its predominant human metabolites on adhesion molecule expression in activated human vascular endothelial cells. *Atherosclerosis*. **197**, 50-56.
24. Tsai TY, Chu LH, Lee CL, and Pan TM (2009) Atherosclerosis-preventing activity of lactic acid bacteria-fermented milksoymilk supplemented with *Morinda charantia*. *J. Agric. Food Chem.* **57**, 2065-2071.
25. Van Boekel M (1998) Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Food Chem.* **62**:403-414.
26. Walstra, P., and R. Jenness. 1984. Dairy Chemistry and Physics. John Wiley & Sons, New York, NY.
27. Webb NR (2008) Getting to the core of atherosclerosis. *Nat. Med.* **14**, 1015-1016.
28. Yamamoto N, Akino A, and Takano T (1994) Anti-hypertensive effect of the peptides derived from casein by an extracellular proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790. *J. Dairy Sci.* **77**, 917-922.