

자외선 B를 조사한 마우스 표피멜라닌세포 변화에 대한 분죽 (*Phyllostachys nigra* var. *henenis* Strapf) 잎 추출물의 효과

이해준, 채세림, 김성호

전남대학교 수의과대학

2007년 4월 3일 접수 / 2007년 5월 29일 채택

C57BL/6 마우스에서 자외선 B(UVB) 조사에 의한 표피 멜라닌세포의 변화에 대한 대나무(분죽, *Phyllostachys nigra* var. *henenis* Strapf) 잎 추출물(BLE)의 효과를 관찰하였다. 마우스에 UVB를 매일 80 mJ/cm² (0.5 mW/sec)씩 7일간 조사하고 BLE를 UV 조사 전 또는 조사 후에 복강내주사 또는 피부에 도포하여 멜라닌세포 형성 억제효과 및 형성된 멜라닌세포에 대한 미백효과를 dihydroxyphenylalanine (DOPA) 염색으로 관찰하였다. 마우스의 귀등쪽 표피를 분리하여 관찰한바, 정상대조군에서는 mm²당 11-16개의 멜라닌세포가 관찰되었으며, UV 조사 일주일 후 발달된 가치를 가진 DOPA 양성 멜라닌세포는 급격히 증가하였다. 멜라닌세포 형성 억제 실험에서는 평균치를 기준으로 복강내 주사군에서 29.9%, 피부도포군에서 33.3%의 유의성 있는 억제 효과가 관찰되었으며, 형성된 멜라닌세포의 감소 효과 실험에서는 평균치를 기준으로 복강내 주사군의 경우 6주에 24.4%의 감소 효과가 관찰되었고, 피부도포군의 경우 3주에 21.0%, 6주에 10.4%의 유의성 있는 감소 효과를 보였다. 이상의 결과는 BLE가 UV에 의한 멜라닌세포 형성 억제제 및 미백제로서의 적용 가능성을 제시하였다.

중심어 : 자외선 B, 멜라닌세포, 대잎추출물

1. 서론

멜라닌은 상피 기저층의 멜라닌 세포에서 분비되는 동물체 피부의 주요 구성 색소이며 만성적 일광노출, 흑피증(melasma) 또는 기타 과색소 질병에 의해 과잉 생산될 수 있다. 따라서 피부변색 치료를 위해 다수의 탈색제 개발되고 있다[1]. 멜라닌은 세포소기관인 리보솜에서 tyrosinase라는 효소의 생합성에서 합성되기 시작한다. 표피의 기저층에 존재하는 멜라닌세포에서 아미노산의 일종인 tyrosine이 tyrosinase를 주효소로 하는 효소의 작용으로 멜라닌이 합성되어 멜라노좀 과립을 형성하고, 생성된 멜라닌은 각질형성 세포로 이동되어 자외선 등에 의한 피부의 노화나 일광각화증을 억제하여 피부를 보호하는 긍정적인 기능을 가지고 있는 반면에, 과잉생산에 의한 피부의 색소침착 및 멜라닌 전구물질들에 의한 독성으로 세포사멸을 촉진하는 부정적인 기능을 동시에 가지고 있다[2-4].

멜라닌 색소 생산에 관여하는 인자로는 tyrosinase 이외에도 각종 prostaglandin류, interferon, melanocyte stimulating hormone (MSH), vitamin D3, histamin, gene expression에 관여하는 인자 등이 보고되었다[5-10]. 멜라닌

생성 억제 물질의 탐색법으로는 tyrosinase 활성저해실험, 배양색소세포를 이용한 실험, 실험동물에서의 생체시험, 사람 피부를 대상으로 한 실험 등이 실시되고 있으며, 그중 멜라닌 합성의 주효소인 tyrosinase 활성저해실험이 멜라닌 종합체 억제제 개발의 초기 단계에서 주로 채택되고 있다[11]. 그러나 최근 멜라닌 생성이 tyrosinase에 의한 산화반응 뿐만 아니라, 여러 가지 복잡한 요인에 의해 진행된다는 것이 밝혀졌고, 또한 *in vitro*에서의 tyrosinase활성 억제물질이 흑색종세포주(melanoma cell line)에서는 활성이 전혀 나타나지 않는 등의 문제로 멜라닌 생성을 종합적으로 억제하는 물질의 개발이 요구되고 있다[12]. 따라서 피부의 멜라닌 생성을 억제하거나 탈색 효과의 확인은 종래에 주로 이용되던 tyrosinase 활성 억제 확인법과 함께 상피조직에서의 멜라닌세포의 수적변화를 현미경 표본에서 형태학적으로 직접 관찰하는 실험이 더욱 정확하리라 생각된다.

현재까지 다양한 피부보호제 및 미백제가 개발되어 사용되고 있으나, 여러 가지 문제점이 제기되고 있다. 미백제로서, 4-hydroxyanisole 및 hydroquinone 등은 기미, 주근깨, 반점 및 임신기 hyperpigmentation과 같은 과잉 색소증 치료에 국부적으로 사용되고 있다. 그러나 이들 화합물은 강력한 멜라닌 생성 저해 활성을 보이지만 색소 세포의 변성 또는 치사를 일으키고 세포 본래의 기능을 손상시키는 등의 부작용을 나타낸다. 특히 hydroquinone 계열은 강력한 멜라닌 생합성 저해활성을 나타내어 미백용 크림으로 개발되었으나, 세포

책임저자 : 김성호, shokim@chonnam.ac.kr, 전남대학교 수의과대학
광주광역시 북구 용봉동 300번지 전남대학교 수의과대학

독성으로 인한 피부자극과 피부병을 유발하여 일부 국가에서만 사용이 허가되고 있는 실정이다[13]. Kojic acid는 현재 arbutin (hydroquinone- β -D-glucopyranoside), ascorbic acid 등과 함께 식품의 갈변 방지제, 화장품, 의약품용 미백제 성분으로 사용되고 있으며, 세정제, 세안제, 욕류 갈변 방지제, 항산화제, 선도 방지제 등의 기능도 보고되고 있다. 그러나 kojic acid의 낮은 저해활성, 사용중의 변색, 물질자체의 불안정성 등의 문제점이 제기되고 있다[13,14]. 그밖에 4-hydroxyindole, 4-hexylresorcinol, 2-mercapto-benzothiazole, cinamic acid, p-coumaric acid, salicyl-hydroxamic acid, tropolone, mimosine, methimazole, 2,3-naphthalenediol 등의 물질이 tyrosinase 저해활성을 나타내지만, 대부분의 물질이 암, 돌연변이 등을 유발시키거나, 강한 독성을 나타낸다고 보고[15,16]되어, 보다 안전한 천연물유래의 새로운 무독성 물질의 발굴이 필요하다.

본 연구에서는 각종 생리활성 효과가 보고[17,18]되었으나 자외선에 의한 피부손상에 대한 연구는 극히 미진한 대나무(분죽, *Phyllostachys nigra* var. *heneinis* Stapf) 잎 추출물(BLE)에 의한 멜라닌세포 형성 억제 및 형성된 멜라닌세포의 감소 효과를 표피조직에서 직접 관찰 측정하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험동물

미국NIH에서 분양받아 원자력의학원에서 사육한 7-8주령의 C57BL/6N 마우스를 사용하였고, 각 실험에서 6마리를 하나의 실험군으로 적용하였다. 동물의 사육은 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 조명시간은 12시간(오전 8시 점등-오후 8시 소등) 및 조도 200-300 lux로 설정된 시설에서 수행하였다. 순화기간을 거쳐 polycarbonate 사육상자에 3마리씩 수용하였고 실험동물용 고품사료(삼양사료, 원주)와 정수장치를 통과한 수도수를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 모든 실험동물은 Institute of Laboratory Animal Resources의 'Guide for the Care and Use of Laboratory Animal' (1996, USA)에 준하여 취급하였다.

2.2 UV조사

UVB 조사는 광원으로 UVB lamp GL20SE (Sankyo denki, Japan)를 이용하여 제작한 UVB 조사기를 사용하였으며 광량은 Solarmeter[®](SolarTech Inc., USA)로 측정하였다. 대조군을 제외한 실험군 마우스 양쪽 귀 등쪽면에 매일 오전 자외선 B를 80 mJ/cm^2 (0.5 mW/sec)씩 7일 동안 조사하였다[19].

2.3 대잎추출물(BLE) 시료 및 투여

신선한 상태의 대나무(분죽, *Phyllostachys nigra* var. *heneinis* Stapf)의 잎을 세절하여, 100 g 당 증류수 1,000 ml의 비율로 혼합하고 80°C 수조에서 8시간 중탕 추출한 뒤 고형분을 제거한 현탁액을 1,000 g에서 30분간 원심분리시키고 상층액을 여과하여 감압농축하고 동결 건조시켰다. 멜라닌

세포 형성 억제 실험에서는 복강내 주사군의 경우 체중 kg당 25 mg을 최초 UV 조사 전 12 시간에 투여하고 이 후 격일로 동일 용량을 각 UV 조사전 12시간에 투여하였으며, 피부도포군의 경우는 연고기재(한국콜마 주식회사)에 BLE를 0.2%로 혼합 제조하여 최초 UV 조사 전 24시간과 15분에 마우스 귀등쪽 피부에 도포하고 이 후 매일 UV 조사 전 15분에 반복 도포하였다. 도포는 귀 등쪽 전면에 얇은 막을 형성할 정도로 시행하였으며 여분의 연고는 가능한 제거하였다. 형성된 멜라닌세포의 감소 효과 실험에서는 멜라닌세포 형성 억제 실험에서와 같은 용량을 적용하였으며 복강내 주사군의 경우 최종 UV 조사 후 30분, 48시간, 96시간 및 144시간에 투여하였고, 피부도포는 최종 UV 조사 후 15분 및 매일 1회씩 부검 시까지 도포하였다.

2.4 현미경적 검사 및 성적처리

멜라닌세포 형성 억제 실험에서는 최종 UV 조사 후 24시간에, 형성된 멜라닌세포의 감소 효과 실험에서는 최종 UV 조사 후 3주 및 6주에 마우스를 경부탈구 방법으로 희생시켰다. 마우스의 양쪽 귀를 등쪽과 배쪽 피부로 분리한 후 등쪽의 표피쪽이 테이프의 접착면을 향하도록 투명 테이프에 표피를 부착시켰다. 37°C buffered EDTA 용액에서 2시간 동안 처리 후 진피부분을 제거하여 표피를 분리하고 조직을 생리 식염수로 세척한 다음 4°C cacodylate buffered formaldehyde solution에 20분 동안 고정시켰다. 고정 후 0.1% levodihydroxyphenylalanine (L-DOPA)용액에 37°C 에서 1시간, 그리고 용액을 바꾸어 2시간을 배양한 후 glycerol로 봉입하여 광학현미경으로 검경하였다. 현미경 100배 시야에서 눈금이 있는 렌즈로, 세포의 분포가 비교적 균일한 귀등쪽 중간 부위에서 2시야를 측정하고 mm^2 당 세포수로 환산하였다. 모든 성적의 분석은 Graph PAD In Plot program (GPIP, Graph PAD software, USA)을 사용하였다.

3. 결과

정상대조군에서 표피 mm^2 당 약 11-16개의 DOPA 양성 멜라닌세포가 관찰되었으며, 자외선조사에 따라 멜라닌세포의 세포체가 커지고 가지돌기의 수와 길이도 증가하였으며 분지의 정도도 잘 발달된 양상을 보였다(Fig.1).

멜라닌세포 형성 억제 실험에서는 평균치를 기준으로 복강내 주사군에서 29.9%, 피부도포군에서 33.3%의 유의성 있는 억제 효과가 관찰되었다(Table 1).

형성된 멜라닌세포의 감소 효과 실험에서는 평균치를 기준으로 복강내 주사군의 경우 6주에 24.4%의 감소 효과가 관찰되었고, 피부도포군의 경우 3주에 21.0%, 6주에 10.4%의 유의성 있는 감소 효과를 보였다(Table 2). BLE 투여군에서는 세포의 가지돌기 형성도 미약하였다. 멜라닌세포의 감소 효과 실험에서 복강내 주사군에서 3주에 평균 12.0%의 감소 효과를 나타냈으나 개체차로 인하여 유의성은 없었다.

4. 고찰



Fig. 1. Melanocytes Morphology as Seen under the Light Microscope of UVB Irradiated Skin. DOPA Stain, x 100.

Table 1. Effect of Intraperitoneal Injection or Topical Application of Bamboo Leaf Extract (BLE) on the Formation of UVB-induced DOPA-positive Epidermal Melanocytes.

Experimental group	Number of DOPA-positive melanocytes per mm ² of epidermis (mean ± SD)
Normal control	15.13 ± 10.32
Radiation control ^a	171.00 ± 27.30
BLE ^a + radiation + BLE	119.80 ± 39.78*
Normal control	14.40 ± 9.45
Radiation control ^b	95.90 ± 13.10
BLE ^b + radiation + BLE	64.00 ± 8.43*

The C57BL/6 mice (n=6) were treated with UVB (80 mJ/cm²/day for 7days) and were sacrificed at 24 hours after last irradiation.

a: BLE (25 mg/kg of body weight) or saline (vehicle) was intraperitoneally injected at 12 hours before first irradiation, and 12 hours before each irradiation every other day.

b: BLE cream (0.2%) or cream base (vehicle) was topically treated at 24 hours and 15 minutes before first irradiation, and 15 minutes before each irradiation.

*p<0.05 as compared with radiation control group.

현재까지 천연물에서 분리된 멜라닌 생성 억제 물질로는 감초에서 분리된 formononetin, glabrene, glabridin, glabrol, 누룩곰팡이(*Aspergillus oryzae*)의 이차대사산물인 kojic acid, 우바우르시엽(*Uvae Ursi Folium*)의 arbutin, 상백피의 oxyresveratrol, dihydromoriin, artocarbene, 4-prenyloxyresveratrol 등이 알려져 있으며[20-23], 최근 국내에서 대국과 식물[24], 전호[25], 홍경천[26], 소목[27] 등의 추출물에 대한 연구가 보고되었다.

Table 2. Effect of Bamboo Leaf Extract (BLE) on the Decrease of DOPA-positive Epidermal Melanocyte Number after UVB Irradiation at 3rd and 6th Week.

Experimental group	Number of DOPA-positive melanocytes per mm ² of epidermis (mean ± SD)	
	3rd week	6th week
Normal control	11.34 ± 9.14	12.45 ± 8.16
Radiation control ^a	406.50 ± 20.08	327.50 ± 30.96
BLE ^a + radiation + BLE	357.63 ± 50.44	247.63 ± 25.60*
Normal control	12.57 ± 9.65	12.44 ± 10.26
Radiation control ^b	344.00 ± 33.75	259.50 ± 11.79
BLE ^b + radiation + BLE	271.75 ± 19.82**	232.50 ± 10.54**

The C57BL/6 mice (n=6) were treated with UVB (80 mJ/cm²/day for 7days) and were sacrificed 3 and 6 weeks later.

a: BLE (25 mg/kg of body weight) or saline (vehicle) was given i.p. at 30 minutes, 48, 96 and 144 hours after last irradiation.

b: BLE cream (0.2 % in cream base) or cream base (vehicle) was topically treated per day for 3 and 6 weeks after last irradiation.

*p<0.01 as compared with radiation control group.

**p<0.05 as compared with radiation control group.

UVB 조사 후 발생하는 표피내 멜라닌 세포수의 증가는 활동성 멜라닌세포의 활성화, 멜라닌세포의 분열과 이동, 줄기세포에서의 기원, 표피내 다른 수지상세포에서의 변화 등과 관련된다고 보고되어있다[28,29]. C57BL 마우스에서 출생 시 체간에 존재하던 멜라닌세포는 생후 12일경 소실되나, 귀, 발바닥, 꼬리 부위에서는 정상적으로 활동성 멜라닌세포가 성년까지 남아있다. 귀등쪽표피내 멜라닌세포는 불균등분포를 하고 있으며 상부 변연부는 세포수가 많은 반면 하부 기저부로 갈수록 세포수가 감소한다[30,31]. 따라서 본 실험에서는 부위에 따른 세포수의 차이를 감안하여 세포의 분포가 비교적 균일한 귀등쪽 중간부위에서 수를 측정하였다. 본 실험에서 관찰된 바와 같이 정상적으로 활동성 멜라닌세포가 존재하는 귀등쪽 표피에서의 수적 증가는 주로 기존하는 멜라닌세포의 증가에 기인할 것으로 사료되나, C57BL 마우스의 체간과 같이 정상적으로 활동성 멜라닌세포가 존재하지 않는 부위에서도 UV 조사에 의해 양성 멜라닌세포가 증가한다는 보고[32]가 있어 비활동성 멜라닌세포의 활성화나 전구세포에서의 기원 등도 배제할 수 없으며 이와 같은 복합적 요인에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

대나무는 열대와 아열대에 분포하는 대형의 목본성 초본 식물(woody grass)이며, 건축 재료, 수공예품, 음식물 및 전통약재 등으로 사용되었다. 대잎은 중국 전통 의학에서 해열과 해독제로 1,000년 동안 사용되어 왔으며, 최근 대잎 성분들의 생리활성 작용과 건강 증진의 잠재성에 대한 연구가 다수 진행되었다. 대잎 추출물의 주요 구성 성분은 flavone glycosides, phenolic acids, coumarin lactones, anthraquinones 와 아미노산이다[33-35]. 많은 논문들에서 대

나무잎 추출물에 풍부한 flavonoid가 항자유라디칼, 항산화, 항노화, 항피로, 항세균 및 항바이러스, 심혈관질환 억제 등 다양한 생물학적 효과가 있음을 보고하였고, 보조음식, 화장품 성분 및 음식첨가물로의 이용 가능성을 제시하였다[34, 36-41]. 이외 대잎 추출물에 풍부한 chlorophyll은 음식의 잠재적 방부제로 이용될 수 있다고 하였으며[42], 다당체는 마우스의 sarcoma 180 종양 발육 억제효과와 복강내 큰포식세포의 탐식 활성 자극 효과가 있음이 보고[43]되었으나 생체 피부에서 UVB에 의한 멜라닌세포의 변화에 대한 연구는 전무한 실정이다.

본 연구에서 UV 조사전 대잎추출물 투여에 의한 멜라닌 세포 형성억제는 복강내 주사군에서 강한 억제 효과를 나타냈으며, 피부도포군에서도 유의성 있는 효과가 관찰되었다. UV조사에 의해 세포수가 증가된 마우스에 대잎추출물을 적용하여 세포수의 감소 유도효과를 확인한 바 복강내 투여군에서는 3주에, 피부도포군에서는 6주에 유의성 있는 감소효과가 관찰되었다. 산화적 스트레스(oxidative stress)는 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)이나 기타 유리기(free radical)의 생성 증가에 의해 유도된다. UV는 피부에 ROS 형성을 유도할 수 있고 이 ROS는 멜라닌의 생합성 및 DNA 손상을 증가시키며, 멜라닌세포의 증식을 유도한다. 피부질환의 병인으로 산화적 스트레스의 역할이 보고되었으며, 항산화제와 같은 유리기 포착제(ROS scavenger)나 발생 억제제가 과색소침착(hyperpigmentation)을 완화함이 알려졌다[44,45]. 항산화 작용은 polyphenol 성분에 의해 이루어지며 대잎에는 flavone c-glycosides, cinnamic acid 유도체와 coumaric lactone, orientin, homoorientin, vitexin, isovitexin, naringin-7-rhamnoglucoside, quercetin, luteolin, rutin, tricin, caffeic acid, chlorogenic acid 와 p-hydroxy coumaric acid 등의 polyphenol이 포함된 것으로 알려져 있다[34,46]. 따라서 본 연구에서 BLE의 효과는 항산화작용[34,35,37]에 의한 효과로 추측되나 이에 대한 추가 연구가 요구된다.

본 연구의 결과는 대잎추출물의 멜라닌 색소 형성 억제 및 형성된 멜라닌 색소의 감소 효과에 대한 최초의 보고로서, 멜라닌 침착 방지 및 피부미백제로서의 개발 가능성을 제시하였다. 이는 대잎추출물의 피부 장해 연구에 기초자료가 될 것이며 추후 투여경로, 투여용량 등의 다양화가 필요하고, 생리활성 및 유효성분에 대한 보다 많은 연구가 계속되어야 할 것이다.

감사의 글

이 연구는 한국과학재단을 통하여 과학기술부가 시행한 원자력연구개발사업 연구비지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Hearing VJ. Biogenesis of pigment granules: a sensitive way to regulate melanocyte function. *J Dermatol Sci*. 2005 Jan;37(1):3-14.
- Weixiong L, Helene ZH. Induced melanin reduces mutations and killing in mouse melanoma. *Phytochem Phytobiol*. 1997;65:480-484.
- Kaufman RJ. Vectors used for expression in mammalian cells. *Meth In Enzymol*. 1991;205:87-92.
- Kameyama K, Takemura T, Hamada Y, Sakai C, Kondoh S, Nishiyama S, Urabe K, Hearing VJ. Pigment production in murine melanoma cells is regulated by tyrosinase, tyrosinase-related protein 1 (TRP1), DOPAchrome tautomerase (TRP2), and a melanogenic inhibitor. *J Invest Dermatol*. 1993;100:126-131.
- Hearing VJ, Jimenez M. Mammalian tyrosinase-the critical regulatory control point in melanocyte pigmentation. *Int J Biochem*. 1987;19:1141-1147.
- Kreiner PW, Gold CJ, Keirns JJ, Brock WA, Bitensky MW. Hormonal control of melanocytes: MSH-sensitive adenylyl cyclase in the Cloudman melanoma. *Yale J Biol Med*. 1973;46:583-591.
- Giacomini P, Imberti L, Aguzzi A, Fisher PB, Trinchieri G, Ferrone S. Immunochemical analysis of the modulation of human melanoma-associated antigens by DNA recombinant immune interferon. *J Immunol*. 1985;135:2887-2894.
- Aroca P, Urabe K, Kobayashi T, Tsukamoto K, Hearing VJ. Melanin biosynthesis patterns following hormonal stimulation. *J Biol Chem*. 1993;268:25650-25655.
- Tomita Y, Fukushima M, Tagami H. Stimulation of melanogenesis by cholecalciferol in cultured human melanocytes : a possible mechanism underlying pigmentation after ultraviolet irradiation. *Tohoku J Exp Med*. 1986;149:451-452.
- Ando S, Ando O, Suemoto Y, Mishima Y. Tyrosinase gene transcription and its control by melanogenic inhibitors. *J Invest Dermatol*. 1993;100:150S-155S.
- Laskin JD, Piccinini LA. Tyrosinase isozyme heterogeneity in differentiating B16/C3 melanoma. *J Biol Chem*. 1986;261:16626-16635.
- Naeyaert JM, Eller M, Gordon PR, Park HY, Gilchrist BA. Pigment content of cultured human melanocytes does not correlate with tyrosinase message level. *Br J Dermatol*. 1991;125:297-303.
- Maeda K, Fukada M. In vivo effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocytes. *J Soc Cosmet Chem*. 1991;42:361-368.
- 이충환, 고영희. 멜라닌 생합성 저해물질의 탐색. *생물산업* 1996;9:32-35.
- Dawley RM, Flurkey WH. 4-hexylresocinol, a potent inhibitor of mushroom tyrosinase. *J Food Sci*. 1993;58:609-610.
- Tomita K, Oda N, Ohbayashi M, Kamei H, Miyaki T, Oki T. A new screening method for melanin biosynthesis inhibitors using *Streptomyces bikiniensis*. *J Antibiot (Tokyo)* 1990;43:1601-1605.
- 과학백과사전출판사. 약초의 성분과 이용. 서울, 일월서각, 1991:653-654.
- Shibata M, Yamatake Y, Sakamoto M, Kanamori M, Takagi K. Pharmacological studies on bamboo grass (1). Acute toxicity and anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of water-soluble fraction (Folin) extracted from *Sasa albomarginata* Makino et Shibata. *Nippon Yakurigaku Zasshi*. 1975 Jul;71(5):481-490.
- 김영근, 박윤기, 김홍직. 자외선B의 조사가 C57BL/마우스 표피의 멜라닌세포에 미치는 영향. *대한피부과학회지* 1988;26(2):139-144.
- Nerya O, Vaya J, Musa R, Izrael S, Ben-Arie R, Tamir S. Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from licorice roots. *J Agric Food Chem*. 2003;51:1201-1207.
- Kahn V. Effect of kojic acid on the oxidation of DL-DOPA, norepinephrine, and dopamine by mushroom tyrosinase. *Pigment Cell Res*. 1995;8:234-240.
- Chakraborty AK, Funasaka Y, Komoto M, Ichihashi M. Effect of arbutin on melanogenic proteins in human

- melanocytes. *Pigment Cell Res.* 1998;11:206-212.
23. Shin NH, Ryu SY, Choi EJ, Kang SH, Chang IM, Min KR, Kim Y. Oxyresveratrol as the potent inhibitor on dopa oxidase activity of mushroom tyrosinase. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;243:801-803.
 24. 김정아, 최지영, 손애량, 박성희, 허광화, 이종구, 오인석, 김진준, 장현욱, 정시령, 장태수, 이승호. 대극과 식물로부터 분리한 천연폴리페놀의 멜라닌 생성 억제효과. *생약학회지* 2004;35:157-163.
 25. 김청택, 김원찬, 진무현, 김호정, 강상진, 강세훈, 정민환, 임영희. 전호의 멜라닌 생성억제 물질. *생약학회지* 2002;33:395-398.
 26. 최두영, 안소영, 이승기, 한정선, 김은철, 이향복, 신정현, 김은기, 노경호. 홍경천에 포함된 미백성분의 분리 및 성능검사. *한국생물공학회지* 2004;19:169-173.
 27. 천현자, 황상구, 이진선, 백승화, 전병훈, 우원홍. 소목의 부탄올 추출물에 의한 Melan-a 세포의 멜라닌생성 억제효과. *생약학회지* 2002;33:130-136.
 28. 김유찬, 윤재일. 자외선을 조사한 C57BL mice에서 자외선 조사부 및 차단부 표피내 멜라닌 세포의 변화에 관한 연구. *대한피부과학회지* 1988;26:283-291.
 29. Slominski A, Tobin DJ, Shibahara S, Wortsman J. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. *Physiol Rev.* 2004;84:1155-1228.
 30. Gerson DE, Szabo G. Effect of single gene substitution on the melanocyte system of the C57BL mouse: quantitative and qualitative histology. *Nature* 1968;218:381-382.
 31. Reynolds J. The epidermal melanocytes of mice. *J. Anat.* 1954;88:45-58.
 32. Jimbow K, Uesugi T. New melanogenesis and photobiological processes in activation and proliferation of precursor melanocytes after UV-exposure: ultrastructural differentiation of precursor melanocytes from Langerhans cells. *J Invest Dermatol.* 1982;78:108-115.
 33. Zhou ZX. The studies on the chemical constituents of bamboo leaves. *Res Dev Nat Prod.* 1992;4(1):44-51.
 34. Zhang Y, Ding XL. Studies on anti-oxidative fraction in bamboo leaves and its capacity to scavenge active oxygen radicals. *J Bamboo Res.* 1996;15(3):17-24.
 35. Hu C, Zhang Y, Kitts DD. Evaluation of antioxidant and prooxidant activities of bamboo *Phyllostachys nigra* var. *Henonis* leaf extract in vitro. *J Agric Food Chem.* 2000 Aug;48(8):3170-3176.
 36. Tang LL, Ding XL. Extraction of bamboo amylase and its biological functions. *Dev Res Food.* 2000;21(1):8-10.
 37. Kweon MH, Hwang HJ, Sung HC. Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). *J Agric Food Chem.* 2001 Oct;49(10):4646-4655.
 38. Xu G, Zhang H. A comparison of the antimicrobial function of both extracts to bacterium between bamboo leaves and *Artemisia anomala* s. *moore*. *Food Sci Technol.* 2001;6:38-39.
 39. Huang W, Wang Y, Hu XB, Yin JT. Study on antimicrobial characteristics of bamboo leaf extracts. *Chem Ind For Prod.* 2002;22:68-70.
 40. Zhang Y, Shen JF, Yu ZY, Lu BY, Lou DD. Primary studies on bamboo leaf flavonoids used as anti-aging factor for skin protection. *Chem Ind For Prod.* 2004;24:95-100.
 41. Fu XC, Wang MW, Li SP, Zhou Q, Li YQ. Effect of bamboo leaf extracts on cardiac function and hemodynamic anesthetized dogs. *Chin Traditi Herbal Drugs.* 2004;35(s):141-144.
 42. Liu XY, Ding J. Study on the extraction and stability of bamboo leaf's chlorophyll. *Chem Res Appl.* 2000;12(2):202-204.
 43. Tang LL, Xu RR, Ding XL. The inhibitory effect of bamboo leaf polysaccharide on implanted Sarcoma 180 tumor. *J Wuxi Univ Light Ind.* 1998;17:62-65.
 44. Yamakoshi J, Otsuka F, Sano A, Tokutake S, Saito M, Kikuchi M, Kubota Y. Lightening effect on ultraviolet-induced pigmentation of guinea pig skin by oral administration of a proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Pigment Cell Res.* 2003 Dec;16(6):629-638.
 45. Ma W, Wlaschek M, Tancheva-Poor I, Schneider LA, Naderi L, Razi-Wolf Z, Schuller J, Scharffetter-Kochanek K. Chronological ageing and photoageing of the fibroblasts and the dermal connective tissue. *Clin Exp Dermatol.* 2001 Oct;26(7):592-599.
 46. Zhang Y, Wu XQ, Yu ZY. Activity of the leaves of bamboo, *phyllostachys nigra*, and ginkgo bilabo. *Chin J Chin Meteria Medica.* 2002;27(4):254-257.

The Effect of Bamboo (*Phyllostachys nigra* var. *henenis* Strapf) Leaf Extract on Epidermal Melanocytes in Ultraviolet B-irradiated Mice

Hae-June Lee, Se-Lim Chae and Sung-Ho Kim
College of Veterinary Medicine, Chonnam National University

Abstract - We induced the activation of melanocytes in the epidermis of C57BL/6 mice by ultraviolet B (UVB) irradiation and observed the effect of bamboo (*Phyllostachys nigra* var. *henenis* Strapf) leaf extract (BLE) on the formation, and decrease of UVB-induced epidermal melanocytes. C57BL/6 mice were irradiated by UVB 80 mJ/cm² (0.5 mW/sec) daily for 7 days, and BLE was intraperitoneally or topically applied pre- or post-irradiation. For the estimation of change of epidermal melanocytes, light microscopic observation with dihydroxyphenylalanine (DOPA) stain was performed. Split epidermal sheets prepared from the ear of untreated mice exhibited 11-16 melanocytes/mm², and one week after UV irradiation, the applied areas show an increased number of strongly DOPA-positive melanocytes with stout dendrites. But intraperitoneal or topical treatment with BLE before each irradiation interrupted UVB-induced pigmentation and resulted in a marked reduction in the number of epidermal melanocytes as compared to radiation control skin. The number and size of DOPA-positive epidermal melanocytes were also significantly decreased in intraperitoneally injected or topically applied group after irradiation with BLE at 3rd and 6th weeks after irradiation. The results of present study indicate that

이해준 외 2인: 표피멜라닌세포에 대한 대잎추출물의 효과

BLE is likely to be useful as inhibitor of UVB-induced pigmentation and depigmenting agent.

Keywords : Ultraviolet B, Melanocyte, Baboo leaf extract