

竹瀝이 3T3-L1 細胞의 增殖 및 分化시 基底膜 단백질 합성에 미치는 영향

전 훈*

우석대학교 약학대학 한약학과

Effect of Bambusae Caulis in Liquamen on the Synthesis of Basement Membrane Proteins during Proliferation and Differentiation of 3T3-L1 Cells

Hoon Jeon*

Department of Oriental Pharmacy, Woosuk University

The purpose of this research was to investigate effects of Bambusae Caulis in Liquamen (BCL) on the synthesis of basement membrane proteins during proliferation and differentiation of 3T3-L1 cells. BCL has been used to relieve the cough and asthma, and remove phlegm in traditional oriental medicines. In recent years, it was studied for its antiinflammatory, antiallergenic, immune-modulating and anticarcinogenic capabilities. We have previously observed that glycyrrhizin stimulates the adipose conversion of 3T3-L1 cells. To investigate effects of BCL on the basement membrane proteins during proliferation and differentiation of 3T3-L1 cells, we have analyzed synthetic amounts of basement membrane components such as type IV collagen and BM40. BCL stimulated the synthesis and secretion of type IV collagen from both 3T3-L1 preadipocytes and adipocytes. The synthesis and secretion of BM40 was not affected by BCL. The continuous addition of BCL markedly stimulated cell growth and increased cell density. These results suggest an important role for type IV collagen in adipocyte differentiation.

Key words : Bambusae Caulis in Liquamen, type IV collagen, BM40

서 론

竹瀝(Bambusae Caulis in Liquamen: BCL)은 전통한약으로서 기침 및 천식을 경감시키고 담을 제거하는데 사용되어 왔다. 竹瀝은 불로 구우는 과정에 제조되며, 淡竹의 줄기를 불에 구워서 받은 액즙이다. 신선한 竹稈을 30~50 cm의 길이로 절단하여 양 끝의 마디를 제거한 후 세로로 가른다. 이것을 선반처럼 걸쳐 놓고 속에서부터 불로 구우면 양끝에서 액체가 흘러나오는데 이것을 받아서 냉각하여 사용한다. 竹瀝은 활담(滑痰), 청열(淸熱), 자음(滋陰), 식풍(息風), 활혈(活血)의 효과가 있으며 증풍의 담정체에는 생강즙과 함께 사용한다^{1,2)}. 최근에는 항염증, 항알러지 및 항피로 능력에 대해서도 연구되었다³⁾.

細胞外 matrix는 세포와 세포의 틈을 채워주고, 세포가 조직

으로서의 집합체를 형성하는 과정을 돕고 있으며, 세포 자체가 분비한 거대 단백질이나 高分子糖 등으로부터 형성된다. 또한 細胞外 matrix는 뼈와 근육에서 조직의 강도와 유연성을 유지하기 위해 필요하며, 上皮細胞와 內皮細胞層을 받쳐주는 구조, 筋纖維를 에워싸는 筋膜으로서 특히 腎臟에서는 腎系球体の 血液系와 尿管系 사이에서 혈액성분으로부터 단백질을 여과하는 膜으로서의 기능뿐 아니라 器官形成, 傷處治癒, 神經網形成과 血管新生의 과정에서도 중요한 역할을 하고 있다^{4,5)}. 더욱이 癌轉移에도 관여하여 腫瘍세포가 혈류를 타고 轉移, 浸潤함에 있어 血管內皮層을 받쳐주고 있는 基底膜을 관통하지 않으면 안 된다.

基底膜(basement membrane)은 이와 같은 細胞外 matrix의 일종으로 基底膜의 주요성분으로는 type IV collagen, laminin, heparan sulfate proteoglycan, fibronectin, entactin/nidogen, BM40(osteonectin, SPARC) 등이 보고되어 있지만, 基底膜의 기본골격은 type IV collagen, laminin 및 entactin이 형성하고 있으며 內皮細胞의 遊走, 增殖, 血管構造의 組織化 등에 관여하고 있

* 교신저자 : 전 훈, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490, 우석대학교 약학대학
· E-mail : jeonh@woosuk.ac.kr · Tel : 063-290-1577
· 접수 : 2003/07/14 · 수정 : 2003/08/30 · 채택 : 2003/10/06

다⁵⁻⁸). 內皮細胞의 응집배양에 의한 in vitro에서의 capillary-like 세포관형성은 type IV collagen과 laminin의 첨가에 의해 촉진되며^{9,10}, 세포의 분화 중에는 많은 단백질의 양적인 변화가 일어나고 3T3-L1 세포의 분화시에는 type IV collagen, laminin 및 entactin과 같은 단백질들이 합성되어 분비가 촉진되는 것으로 알려져 있다¹¹). 3T3-L1 세포는 Green¹²⁻¹⁵) 등에 의해 분리되어 적절한 조건하에서 adipocyte로 분화하는 성질을 가지고 있어 세포 분화 과정을 연구하는 표준 모델로 사용되고 있다. Retinoic acid¹⁶), vitamin E¹⁷), lithium¹⁸) 및 phorbol ester¹⁹) 등은 脂肪細胞로의 분화를 억제하며, ascorbic acid²⁰), hemin²¹) 및 corticosterone²²) 등은 脂肪細胞로의 분화를 촉진시킨다는 사실이 보고되었다. 그러나 아직까지 in vitro계에서 竹瀝이 基底膜 단백질에 어떠한 영향을 미치는지 보고되지 않았기에 3T3-L1 세포를 이용하여 세포의 증식 및 분화시 竹瀝이 基底膜 주요 구성 단백질인 type IV collagen 및 BM40의 합성에 미치는 영향을 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 시약 및 기기

실험에 사용한 시약은 Dulbecco's modified Eagle's medium (DME), penicillin-streptomycin, Dulbecco's phosphate buffered saline, Triton-X100, sodium dodecyl sulfate (SDS), phenyl methyl sulfonyl fluoride (PMSF), anti-mouse type IV collagen, insulin, collagenase, dexamethason (DEX), 1-methyl-3-isobutylxanthine (MIX), biotin은 Sigma Co.에서 fetal bovine serum (FBS), trypsin은 Gibco Co.에서 Protein A Sepharose CL-4B는 Pharmacia Co.에서 L-[³⁵S]methionine (1200 Ci/mmol)은 ICN에서 구입하여 사용하였으며, BCL은 Juksan biotech. (전남 담양, 한국)으로부터 구입하였다. 기타 시약은 cell culture용 및 1급 시약을 사용하였다. 사용기구는 culture flask (Nunc), 24 well plate (Costar), CO₂ incubator (Vision scientific Co.), inverted fluoromicroscope (Zeiss Co.), electrophoresis system (Bio-Lad), XAR-5 X-ray film (Kodak) 등을 사용하였다.

2. DNA 함량측정

24 well plate에서 배양한 세포는 Ono 등의 방법²⁰)에 準하여 BCL의 添加 또는 未添加下에서 배양하였으며, DNA 함량 측정도 Ono 등의 방법²⁰)에 따라 트립신으로 소화한 후 측정하였다.

3. 3T3-L1 세포의 배양 및 adipocyte로의 분화 유도

3T3-L1 세포의 배양은 Aratani¹¹) 등의 방법에 準하여 배양하였다. 세포 배양액은 FBS 10 %와 antibiotics 1 % (penicillin-streptomycin 100 units/ml)를 첨가한 DME 배지를 사용하였다. 최종농도가 0.1 %가 되도록 BCL을 처리²³)하여 DME 배지상에서 24 well plate에 10³ cells/cm²가 되도록 3T3-L1 세포를 접종한 후, confluent 상태에 도달하면 분화 유도 물질로 DEX 0.25 mM, MIX 0.5 mM, insulin 10 µg/ml을 첨가한 DME/FBS 배지로 교환한 다음, adipocyte로의 분화는 前報²⁴)와 동일한 방법으로 유도하였다.

4. 방사성 아미노산에 의한 세포의 labeling

24 well plate에서 배양한 세포는 BCL의 添加 또는 未添加下에서 24 시간 배양하였다. 방사성 아미노산에 의한 labeling은 BCL을 포함한 methionine-free MEM 배지에서 30 분간 전처리한 후, BCL과 0.5 mCi/ml [³⁵S] methionin을 첨가한 200µl의 methionin-free MEM 배지상에서 37 °C 조건에서 4 시간 배양하였다. 배양 중의 세포수와 methionin의 세포내 pool의 상위를 표준화하기 위해 세포 단백질에 결합된 [³⁵S] methionin 방사능량의 1.5×10⁶ dpm에 상당하는 용량의 label된 세포 배양액과 cell lysate를 immunoprecipitation하여 측정하였다²⁵).

5. Collagenase 처리

세균성 collagenase 처리의 방사성 아미노산에 의한 labeling 배양액의 소화처리는 Ono 등의 방법¹⁷)에 準하여 측정하였다.

6. Immunoprecipitation 및 전기영동

Type IV collagen 및 BM 40의 immunoprecipitation은 Aratani⁸) 및 Tokida²⁵) 등의 방법을 이용하였다. Labeling한 세포를 200 µl의 immunoprecipitation buffer (10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 2 mM EDTA, 1 % (v/v) Triton X-100, 0.4 % (w/v) SDS, 1 mM PMSF, 0.4 M NaCl)로 용해한 후, 적당량을 immunoprecipitation buffer로 희석하여 1 ml로 하여 1 µl의 anti-type IV collagen 혈청 및 anti-BM40 혈청을 첨가해 37 °C에서 1시간 incubation한 후, 25 µl의 10 % (w/v) protein A sepharose 현탁액을 가하여 1 시간 동안 진탕하였다. 진탕한 세포를 2,000 rpm에서 3 초간 원심분리하여 침강된 sepharose수지를 immunoprecipitation buffer로 3 회 세척한 후, 3 배 농도의 SDS 전기영동 buffer (9 % (w/v) SDS, 0.2 % Tris-HCl (pH 6.8), 15 % (v/v) glycerol, 6 % (v/v) 2-mercaptoethanol, 0.01 % BPB) 중에 5 분간 자비한 후 SDS 전기영동을 하였다. SDS 전기영동은 Laemmli²⁶)의 불연속완충액계를 사용, 3 %의 농축용과 4 %의 분리용 또는 8 %의 분리용 acrylamide gel을 이용하였다²⁷).

결 과

1. 3T3-L1 세포의 증식시 DNA양의 변화

3T3-L1 세포에 최종농도가 0.1 %가 되도록 BCL을 처리하여 10 일 동안 배양한 후 DNA양을 측정할 결과 BCL을 처리한 경우는 대조군보다 DNA양이 유의성있게 증가한 것을 알 수 있었으며, 10 일 경과하면 BCL 첨가여부에 관계없이 confluent상태에 도달하는 것을 알 수 있었다(Fig. 1).

2. 3T3-L1 세포가 분비하는 collagen 단백질

24 well plate에서 배양한 세포는 BCL의 添加와 未添加下에서 24 시간 배양하였다. 방사성 아미노산에 의한 labeling은 BCL을 포함한 methionine-free MEM 배지에서 30 분간 전처리한 후, BCL과 0.5 mCi/ml [³⁵S] methionin을 첨가한 200µl의 methionin-free MEM 배지상에서 37 °C 조건에서 4 시간 배양하

였다. 방사성 아미노산으로 labeling한 3T3-L1 세포에 세균유래 collagenase로 37 °C 조건에서 4 시간 소화한 후 환원조건에서 SDS 전기영동으로 분리하였다. 세균유래의 collagenase에 감수성을 나타내는 polypeptide가 영동영역에 다수 검출되었으며, BCL 첨가에 의해 그 양이 현저히 증가되었음을 관찰할 수 있었다(Fig. 2).

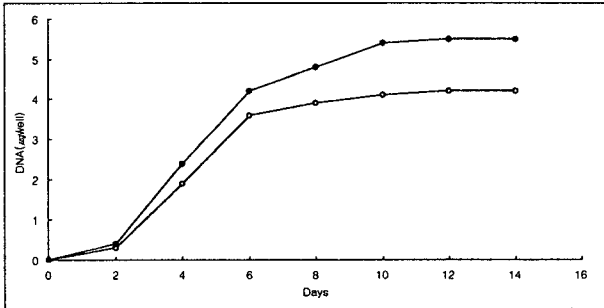


Fig. 1. Effect of BCL on growth of 3T3-L1 cells. The cells were inoculated on Day 0 into 24-well plates at an initial density of 10^3 cells/cm² and grown in DME-FBS with (●) and without (○) BCL. On the day indicated, the cells were harvested by trypsinization and the amount of DNA per well was assayed. Apparent confluence was reached on Day 10 in both cultures.

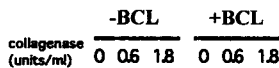


Fig. 2. Collagenous polypeptides secreted from 3T3-L1 cells. 3T3-L1 cells incubated with or without BCL for 24h were labeled with [³⁵S] methionine for 4h, samples of labeled media corresponding to 1.5×10^5 cpm of [³⁵S] methionine incorporated into acid-insoluble cellular proteins were digested with the indicated units of bacterial collagenase for 4h and analyzed by sodium dodecyl sulfate(SDS) electrophoresis. Collagenase-resistant bands are indicated by open arrowheads and collagenase-sensitive bands by closed arrowheads. Migration positions of α 1(IV) and α 2(IV) sub-chains based on the result in Fig. 3 are also indicated.

3. 3T3-L1 세포의 증식시 BCL에 의한 기저막 단백질의 합성 촉진

24 well plate에서 배양한 세포는 BCL의 첨가와 未添加下에서 24 시간 배양하였다. 방사성 아미노산에 의한 labeling은 BCL을 포함한 methionine-free MEM 배지에서 30 분간 전처리한 후, BCL과 0.5 mCi/ml [³⁵S] methionin을 첨가한 200 μ l의 methionin-free MEM 배지상에서 37 °C 조건에서 4 시간 배양하

였다. Labeling한 3T3-L1 세포의 세포배양액(M)과 cell lysate(C)을 anti-mouse type IV collagen 및 anti-mouse BM40으로 immunoprecipitation하여 SDS 전기영동으로 분리하였다(Fig. 3,4,5). Label된 배양액(M)에는 type IV collagen의 성숙형 α 1(IV) chain과 α 2(IV) chain에 대응하는 영동도를 가진 2개의 band가 검출되었고, cell lysate(C)에는 세포배양액(M)보다는 조금 빠른 영동도를 나타내는 2개의 band가 검출되었다. 세포배양액(M)과 cell lysate(C)에 검출된 band는 BCL첨가에 의해 α 1(IV) chain과 α 2(IV) chain의 합성과 분비가 더욱 촉진되는 것이 관찰되었다(Fig. 3). 동일한 방법으로 labeling한 3T3-L1 세포의 세포배양액(M)과 cell lysate(C)을 anti-mouse BM40으로 immunoprecipitation하여 SDS 전기영동으로 분리하였다(Fig. 5). 증식된 3T3-L1 세포에서 BM40의 합성과 분비가 촉진됨이 관찰되었고, 이러한 결과로부터 3T3-L1 세포의 증식시 基底膜 구성성분인 type IV collagen 및 BM 40의 합성과 분비가 촉진됨을 알 수 있었다.

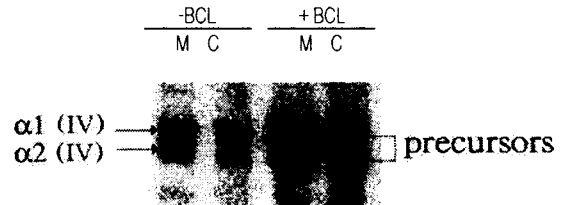


Fig. 3. Immunoprecipitation of type IV collagen sub-chains synthesized and secreted by 3T3-L1 cells. 3T3-L1 cells incubated with or without BCL for 24h were labeled with [³⁵S] methionine for 4h. Labeled media(M) and cell lysates(C) corresponding to 1.5×10^5 cpm of [³⁵S] methionine incorporated into acid-insoluble proteins were immunoprecipitated by anti-type IV collagen antiserum and analyzed by SDS-electrophoresis.

4. 3T3-L1 세포의 분화시 BCL에 의한 기저막 단백질의 합성

24 well plate에서 분화 유도물질을 첨가하여 배양한 세포에 BCL의 첨가와 未添加下에서 24 시간 배양하였다. 방사성 아미노산에 의한 labeling은 adipocyte로 분화 유도된 세포에 BCL을 포함한 methionine-free MEM 배지에서 30 분간 전처리한 후, BCL과 0.5 mCi/ml [³⁵S] methionin을 첨가한 200 μ l의 methionin-free MEM 배지상에서 37 °C 조건에서 4 시간 배양하였다. 분화 유도된 3T3-L1 세포를 방사성 아미노산에 의해 labeling한 후 세포배양액(M)과 cell lysate(C)을 anti-mouse type IV collagen 및 anti-mouse BM40으로 immunoprecipitation하여 SDS 전기영동으로 분리하였다(Fig. 4,5).

분화 유도된 3T3-L1 세포에서는 preadipocyte 3T3-L1 세포에서 보다 type IV collagen의 합성이 증가되었음이 관찰되었고, 또한 BCL의 未添加보다는 첨가에 의해 type IV collagen의 합성이 증가되었음을 관찰할 수 있었다. 그러나 분화 유도된 3T3-L1 세포에서 BCL에 의한 BM40의 합성과 분비는 영향을 받지 않음을 알 수 있었고, 이러한 결과로부터 3T3-L1 세포 분화시 BCL첨가에 의해 type IV collagen의 합성과 분비는 촉진되었지만 BM40의 합성과 분비는 영향을 받지 않음을 알 수 있었다.

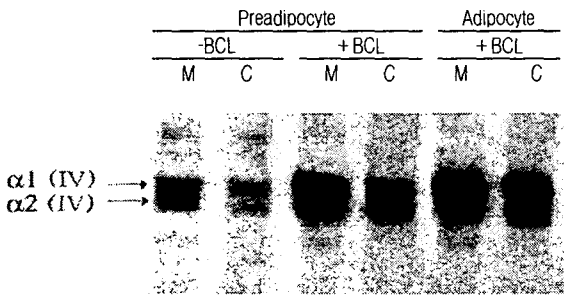


Fig. 4. Immunoprecipitation of type IV collagen from preadipocyte and adipocyte of 3T3-L1 cells with and without BCL. Labeled media(M) and cell lysates(C) corresponding to 1.5×10^6 cpm of [35 S] methionine incorporated into acid-insoluble proteins were immunoprecipitated by anti-type IV collagen antiserum. Precipitates were applied to SDS-electrophoresis as in Fig. 3.

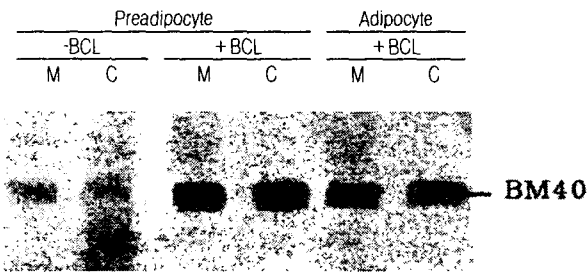


Fig. 5. Immunoprecipitation of BM 40 from preadipocyte and adipocyte of 3T3-L1 cells with and without BCL. Labeled media(M) and cell lysates(C) corresponding to 1.5×10^6 cpm of [35 S] methionine incorporated into acid-insoluble proteins were immunoprecipitated by anti-BM40 antiserum. Precipitates were applied to SDS-electrophoresis as in Fig. 4.

고찰

基底膜(basement membrane)은 細胞外 matrix의 일종으로 上皮(epithelium)와 內皮(endothelium)층의 아래쪽에 膜狀構造體를 형성하며 조직의 형성에 관여한다. 幹充織(mesenchyme)을 基底膜이 뒤덮고, 그 위에 단층의 上皮나 內皮細胞가 퍼져있는 구조를 하고 있다. 조직의 특징은 上皮나 內皮細胞의 성질에 의해 결정되고 基底膜은 빈약한 단층구조를 보강함은 물론, integrin 등의 수용체를 이용 세포골격에도 작용하며 세포의 극성결정에도 관여하며, 다양한 세포의 接着, 伸展, 遊走, 分化 등에 관여하고 암전이에도 관여하여 종양세포가 血管內皮細胞를 싸고 있는 基底膜을 관통하지 않으면 전이를 할 수 없다. 基底膜의 구성성분은 type IV collagen, laminin, BM40, entactin, fibronectin, proteoglycan 및 tenascin 등의 糖단백질로 형성되어 있다. 基底膜은 이러한 단백질의 다양한 결합양식에 의한 網狀構造를 형성하고 있지만 기본골격을 형성하고 있는 단백질은 type IV collagen과 BM40이다. Type IV collagen은 ($\alpha 1$)($\alpha 2$)1의 3중 나선구조로 되어 Gly-X-Y의 아미노산 배열이 반복되는 특이한 구조를 하고 있으며, BM40은 기저막에 존재하는 칼슘결합성 糖단백질로 SDS 전기영동시 40 kDa의 영동도를 보이며, cystein 함량이 높고 풍부한 기저막을 가진 Engelbreth-Holm-Swarm (EHS) 腫瘍으로부터 단리 되었다²⁸⁾. 처음에는 osteonectin(뼈에서 단리) 또는 SPARC(내피세포에서 단리)라고 불리어 졌지만 아미

노산 sequence 및 DNA sequence의 결과 동일한 단백질로 판명되었다^{29,31)}. BM40은 collagen과의 친화성이 강하며, 조직을 수복하거나 heat shock시 발현양이 증가하는 특징을 가지고 있지만 이외의 기능에 대해서는 많이 알려져 있지 않다.

대나무는 동양에서 오래 전부터 항산화 활성이 있어 면역질환과 암 성장의 예방에 사용되어 왔다. Phyllostachys nigra 또는 Phyllostachys edulis^{32,34)}로부터 얻는 竹瀝(Bambusae Caulis in Liquamen: BCL)은 전통한약으로서 기침 및 천식을 경감시키고 담을 제거하는데 사용되어 왔다. 竹瀝은 불로 구우는 과정에 제조되며, 淡竹의 줄기를 불에 구워서 받은 액즙이다. 신선한 竹稈을 30~50 cm의 길이로 절단하여 양끝의 마디를 제거한 후 세로로 가른다. 이것을 선반처럼 걸쳐 놓고 속에서부터 불로 구우면 양끝에서 액체가 흘러나오는데 이것을 받아서 냉각하여 사용한다. BCL은 활담(滑痰), 청열(淸熱), 자음(滋陰), 식풍(息風), 활혈(活血)의 효과가 있으며 중풍의 담정체에는 생강즙과 함께 사용한다^{1,2)}. 최근 몇 년간 항염증, 항알러지 및 항피로 능력에 대해서도 연구되었다³⁾. 그러나 아직까지 in vitro계에서 BCL이 기저막 단백질에 어떠한 영향을 미치는지 보고되지 않았기에 3T3-L1 세포를 이용하여 세포의 증식 및 분화시 BCL이 기저막 구성단백질인 type IV collagen 및 BM 40의 합성에 미치는 영향을 관찰하였다.

BCL은 ascorbic acid와 동일한 약리작용이 있을 것으로 생각되어지며, ascorbic acid를 처리하면 3T3-L1 세포의 脂肪細胞로의 전환을 촉진시킨다고 보고하였기에 本 실험에서는 3T3-L1 세포의 증식 및 분화시 BCL이 基底膜 주요 구성성분인 type IV collagen 및 BM 40의 합성에 어떠한 영향을 미치는지 관찰하였다.

Ascorbic acid를 처리 시²⁰⁾와 동일한 결과를 보였으며, 3T3-L1 세포의 증식이 confluent 상태에 도달하기 전까지는 BCL 첨가에 의해 증식이 촉진된다는 것을 알 수 있었다(Fig. 1). Label된 배양액(M)에는 type IV collagen의 성숙형 $\alpha 1$ (IV) chain과 $\alpha 2$ (IV) chain에 대응하는 영동도를 가진 2개의 band가 검출되었고, cell lysate(C)에는 세포배양액(M)보다는 조금 빠른 영동도를 나타내는 2개의 band가 검출되었으나 후자는 N-linked glycan의 말단수식이 완료되지 않은 세포내전구체로 생각되어진다(Fig. 3). 또한 증식된 3T3-L1 세포에서 BM40의 합성과 분비가 촉진됨이 관찰되었다(Fig.5). 분화 유도된 3T3-L1 세포에서는 preadipocyte 3T3-L1 세포에서 보다 type IV collagen의 합성이 증가되었음이 관찰되었고, 또한 BCL의 未添加보다는 添加에 의해 type IV collagen의 합성이 증가되었음을 관찰할 수 있었다. 이 결과는 BCL이 3T3-L1 세포의 분화를 촉진하며, 분화 유도된 3T3-L1 세포에서도 BCL첨가에 의해 type IV collagen의 합성이 더욱 촉진된다는 것을 의미한다. 그러나 분화 유도된 3T3-L1 세포에서 BCL에 의한 BM40의 합성과 분비는 영향을 받지 않음을 알 수 있었고, 이러한 결과로부터 3T3-L1 세포의 분화시 BCL첨가에 의해 type IV collagen의 합성과 분비는 촉진되었지만, BM40의 합성과 분비는 영향을 받지 않음을 알 수 있었다. 이 결과는 ascorbic acid에 의한 type IV collagen의 합성의 증가와 3T3-L1 세포의 분화를 촉진한다는 보고²⁰⁾와 같은 결과이며, adipocyte로

의 분화에 있어 type IV collagen이 중요한 역할을 하고 있음을 의미하는 것이다.

결 론

3T3-L1 세포의 DNA양 측정 결과 竹瀝(BCL)은 3T3-L1 세포의 증식을 촉진하였으며, 3T3-L1 세포의 증식시 基底膜 구성성분인 type IV collagen 및 BM40의 합성과 분비가 BCL에 의해 촉진됨을 알 수 있었다. 또한 3T3-L1 세포 분화시 BCL첨가에 의해 type IV collagen의 합성과 분비는 촉진되었지만, BM40의 합성과 분비는 영향을 받지 않음을 알 수 있었다. 이상의 실험 결과, 3T3-L1 세포 분화시 BCL은 基底膜 성분인 BM40의 합성과 분비에는 영향을 주지 않았으며 type IV collagen의 합성과 분비를 촉진하는 것으로 보아 adipocyte로의 분화에 있어 type IV collagen이 중요한 역할을 하고 있음을 의미하는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 논문은 2003년도 우석대학교 교내학술연구비지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- Kang, B. S., Ko, U. C., Kim, K. Y., Kim, S. H., Kim, I. R., Kim, H. C., No, S. H., Park, Y. K., Seo, B. I., Seo, Y. B., Song, H. J., Sin, M. K., Ahn, D. K., Lee, S. Y., Lee, Y. J., Lee, T. H., Cho, S. Y., Ju, Y. S. and Choi, H. Y. *Boncho-Hak*, 467. Young-Lim Press, Seoul. 1991.
- Park, K. J. and Chae, W. S. A literature study on *Succus Phyllostachyos*. *J. Kor. Acu. & Moxi. Soc.* 18(3): 184. 2001.
- Na, C. S., Youn, D. H., Choi, D. H., Kim, J. S. and Jang, K. S. The effects of BCL(*Bambusae Caulis in Liquamen*) on fatigue induced by swimming exercise. *J. Kor. Ori. Med.* 22(4): 90. 2001.
- Madri, J. A. and Williams, S. K.: Capillary endothelial cell cultures; phenotypic modulation by matrix components. *J. Cell Biol.* 97, 153, 1983.
- Form, D. M., Pratt, B. M. and Madri, J. A.: Endothelial cell proliferation during angiogenesis. *Lab. Invest.* 55, 521, 1986.
- Madri, J. A. and Stenn, K.: Aortic endothelial cell migration. *Am. J. Pathol.* 106, 180, 1982.
- Reפש, L. A., Fitzgerald, T. J. and Furcht, L. T.: Fibronectin involvement in granulation tissue and wound healing in rabbits. *J. Histochem. Cytochem.* 30, 351, 1982.
- Herbst, T. J., McCarthy, J. R., Tsilibary, E. C. and Furcht, L. T.: Differential effects of laminin, intact type IV collagen on endothelial cell adhesion and migration. *J. Cell Biol.* 106, 1365, 1988.
- McGuire, P. G. and Orkin, R. W.: Isolation of rat aortic endothelial cells by primary explant techniques and their phenotypic modulation by defined substrata. *Lab. Invest.* 57, 94, 1987.
- Montesano, R., Orci, L. and Vassalli, P.: In vitro rapid organization of endothelial cells into capillary-like networks is performed by collagen matrices. *J. Cell Biol.* 97, 1648, 1983.
- Aratani, Y. and Kitagawa, Y.: Enhanced synthesis and secretion of type IV collagen and entactin during adipose conversion of 3T3-L1 cells and production of unorthodox laminin complex. *J. Biol. Chem.* 263, 16163, 1988.
- Green, H. and Kehinde, O.: Sublines of mouse 3T3 cells that accumulate lipid. *Cell* 1, 113, 1974.
- Green, H. and Meuth, M.: An established pre-adipose cell line and its differentiation in culture. *Cell* 3, 127, 1974.
- Green, H. and Kehinde, O.: An established pre-adipose cell line and its differentiation in culture. II. Factors affecting the adipose conversion. *Cell* 5, 19, 1975.
- Green, H. and Kehinde, O.: Spontaneous heritable changes leading to increased adipose conversion in 3T3 cells. *Cell* 7, 105, 1976.
- Stone, R. L. and Bernlohr, D. A.: Retinoic acid inhibits the expression of adipose-specific genes during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Am. Soc. Cell Biol. & Biochem. Mol. Biol.* 1989.
- Kawada, T., Aoki, N., Kamei, Y., Maeshige, K., Nishiu, S. and Sugimoto, E.: Comparative investigation of vitamins and their analogues on terminal differentiation from preadipocytes to adipocytes of 3T3-L1 cells. *Comp. Biochem. Physiol.* 96A, 323, 1990.
- Aratani, Y., Sugimoto, E. and Kitagawa, Y.: Lithium ion reversibly inhibits inducer-stimulated adipose conversion of 3T3-L1 cells. *FEBS Lett.* 218, 47, 1987.
- Shimizu, Y., Shimizu, N., Fujiki, H. and Sugimura, T.: Distinct inhibitory effects of dihydroteleocidene B and the phorbol ester tumor promoters on the adipocyte differentiation of 3T3-L1 cells. *Cancer Res.* 43, 4974, 1983.
- Ono, M., Aratani, Y., Kitagawa, I. and Kitagawa, Y.: Ascorbic acid phosphate stimulates type IV collagen synthesis and accelerates adipose conversion of 3T3-L1 cells. *Exp. Cell Res.* 187, 309, 1990.
- Chen, J. J. and London, I. M.: Hemin enhances the differentiation of mouse 3T3 cells to adipocytes. *Cell* 26, 117, 1981.
- Serrero, G. and Khoo, J. C.: An in vitro model to study adipose differentiation in serum free medium. *Anal. Biochem.* 120, 351, 1981.

23. Jeon, H., Kang, N. J. and Kim, G. S. CD gene microarray profiles of *Bambusae Caulis* in Liguamen in human mast cell. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology* 17(1): 241. 2003.
24. Jeon, H. and Leem, K. H. Effect of Glycyrrhizin on the synthesis of type IV collagen and laminin during proliferation and differentiation of 3T3-L1 cells. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology* 15(6): 950, 2001.
25. Tokida, Y., Aratani, Y., Morita, A. and Kitagawa, Y.: Production of two variant laminin forms by endothelial cells and shift of their relative levels by angiostatic steroids. *J. Biol. Chem.* 265, 18123, 1990.
26. Laemmli, U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680, 1970.
27. Jeon, H., Ono, M., Kumagai, C. and Kitagawa, Y.: Subunit assembly of laminin variants in cultured animal cells. *Animal cell technology: Basic & Applied Aspects* 5, 41, 1993.
28. Dziadek, M., Paulsson, M., Aumailley, M., and Timpl, R. Purification and tissue distribution of a small protein (BM-40) extracted from a basement membrane tumor. *Eur. J. Biochem.* 161, 455, 1986.
29. Termine, J. D., Kleinman, H. K., Whitson, S. W., Conn, K. M., Mcgarvey, M. L., and Martin, G. R. Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen. *Cell*, 26, 99, 1981.
30. Sage, H., Johnson, C., and Bornstein, P. Characterization of a novel serum albumin-binding glycoprotein secreted by endothelial cells in culture. *J. Biol. Chem.* 259, 3993, 1984.
31. Mason, I. J., Taylor, A., Williams, J. G., Sage, H., and Hogan, B. L. M. Evidence from molecular cloning that SPARC, a major product of mouse embryo parietal endoderm, is related to an endothelial cell 'culture shock' glycoprotein of Mr 43,000. *EMBO J.* 5, 1465, 1986.
32. Hu, C., Zhang, Y. and Kitts, D. D. Evaluation of antioxidant and prooxidant activities of bamboo *Phyllostachys nigra* var. Henonis leaf extract in vitro. *J. Agric. Food. Chem.* 48(8): 3170. 2000.
33. Nikaido, T., Sung, Y., Ohmoto, T. and Sankawa, U. Inhibitors of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate phosphodiesterase in *Phyllostachys nigra* Munro var. henonis Stapf. and *Phragmites communis* Trin., and inhibition by related compounds. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*. 32(2): 578. 1984.
34. Kweon, M. H., Hwang, H. J. and Sung, H. C. Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). *J. Agric. Food. Chem.* 49(10): 4646. 2001.