

香蕉皮萃取物對紫外光誘發皮膚損傷的保護效果及 免疫調節功能

陳駿威¹ 張富貴² 張基昌^{3,4} 洪哲穎^{5,6*} 洪永瀚^{7*}

Protective Effects of Banana Peel Extract on UV-Induced Skin Damage and Its Immune Modulation Function

Chun-Wai Chan¹, Fu-Kuei Chang², Chi-Chang Chang^{3,4}, Jer-Yiing Houg^{5,6*},
Yong-Han Hong^{7*}

¹Institute of Food Science and Technology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

²Department of Medical Science and Biotechnology, I-Shou University, Kaohsiung, Taiwan

³Department of Obstetrics & Gynecology, E-Da Hospital, I-Shou University, Kaohsiung, Taiwan

⁴Department of Obstetrics & Gynecology, E-Da Dachang Hospital, I-Shou University, Kaohsiung, Taiwan

⁵Department of Nutrition, I-Shou University, Kaohsiung, Taiwan

⁶Department of Chemical Engineering, I-Shou University, Kaohsiung, Taiwan

⁷Graduate Programs of Nutrition Science, National Taiwan Normal University, Taipei, Taiwan

(Received: October 21, 2024. Accepted: January 06, 2025.)

Abstract Ultraviolet B (UVB) is one of the major factors leading to skin damage and photoaging. This study aims to investigate the protective effects of banana peel extract on UVB-induced skin damage and to evaluate its impact on immune response and vitamin D metabolism. Firstly, we conducted cell culture experiments to analyze the photoprotective effects of different fractions of banana peel extract. The results showed that the water fraction (wW) at a concentration of 200 µg/mL significantly increased the survival rate of keratinocytes after UVB exposure and reduced the production of IL-6 and reactive oxygen species (ROS). This water fraction was subsequently referred to as banana peel extract (BPE) in following experiments. In the animal studies, the control group of mice exhibited a significant increase in skin thickness after UVB exposure, while the group treated with BPE (10.6 mg/mouse, skin application) showed a trend to decrease skin thickness. Additionally, supplementation of BPE (80 mg/kg BW, oral tube-feeding) effectively reduced the increase in epidermal thickness induced by UVB and improved collagen loss. Moreover, UVB exposure caused a significant decrease in the production of IFN-γ in the spleens of mice, while the production of IL-6 increased. Notably, BPE supplementation was able to elevate IFN-γ levels and reduce IL-6 levels, indicating its potential to regulate the Th1/Th2 ratio. In conclusion, this study confirms the potential of BPE in protecting against UVB-induced skin damage and modulating immune responses, providing important references for the use of skin protection materials.

Key words: Ultraviolet B, skin damage, banana peel extract, immune regulation

前 言

* Corresponding author: Yong-Han Hong, Jer-Yiing Houg

Address: No. 88, Sec. 4, Tingzhou Rd., Wenshan District, Taipei City,
116325 Taiwan (R.O.C.).

Tel: +886-2-7749-6296; +886-7-6151100 ext. 7915

E-mail: yonghan@ntnu.edu.tw; jyhoung@isu.edu.tw

皮膚是人體最大的器官，主要由表皮、真皮和皮下組織組成。表皮層主要由角質細胞（keratinocytes）構成，這些細胞在正常狀態下會不斷脫落，

其空缺由下層細胞補充和取代。真皮層纖維母細胞產生的間質蛋白，例如膠原蛋白 (collagen) 和彈力蛋白 (elastin)，對維持皮膚的完整性至關重要。紫外光 (ultraviolet light, UV) 根據波長分為 UVA (320-400 nm)、UVB (280-320 nm) 及 UVC (200-280 nm) 三種，其中，UVC 會被大氣臭氧層吸收，因此不會直接達到地表，相反地，UVA 與 UVB 可以到達地表，通常 90-95% 的紫外光為 UVA，而 5-10% 為 UVB。儘管 UVB 的比例較低，但由於其波長較短，能量更高，因此對皮膚的傷害力更大。UVB 能穿透至表皮層，導致表皮肥厚、角質增厚及皮膚紅腫發炎，並直接損傷細胞內的 DNA，造成突變，同時生成反應性氧分子 (reactive oxygen species, ROS)，進一步損害蛋白質、脂質及細胞膜⁽¹⁾。

皮膚暴露於過量紫外光下，除造成其結構受損外，還會影響表皮中免疫細胞的功能。前人研究表示，紫外光照射處理會刺激表皮的樹突細胞移往附近淋巴結，經由呈獻抗原後活化調節性 T 細胞，這些 T 細胞後續移動至紫外光照射的皮膚位置，透過分泌 IL-10 來降低免疫作用⁽²⁾。另外，一項研究指出，小鼠連續暴露高量 UVB 的照射會增加調節性 T 細胞的分化，同時，卻降低淋巴結和皮膚中效應 CD4⁺ 與 CD8⁺T 細胞的增生⁽³⁾，顯示過量暴露 UVB 會抑制細胞媒介免疫反應。Abo Elnazar 等人的研究也發現 UVB 照射會降低小鼠體內 Th1 細胞激素表現量，而增加 Th2 細胞激素表現量⁽⁴⁾，一項回顧文章並指出，紫外光造成皮膚發生光老化的機制涉及持續地發炎、壓制效應免疫細胞、降低皮膚鄰近細胞生成關係密切⁽⁵⁾。

UVB 光線還能促使皮膚合成維生素 D。當 UVB 照射皮膚表面時，7 α -脫氫膽固醇 (7 α -dehydrocholesterol) 會轉化為維生素 D3 (cholecalciferol)，並經由肝臟和腎臟轉化為 1,25 (OH)₂D₃，這是一種活化的維生素 D 形式。維生素 D 對鈣和磷的代謝、骨骼健康至關重要，且與免疫系統功能密切相關⁽⁶⁾。維生素 D 的缺乏會導致免疫系統功能失調，尤其影響 T 細胞的平衡。維生素 D 調節 Th1 和 Th2 細胞反應，其中 Th1 細胞負責細胞介導的免疫反應，而 Th2 細胞則與體液免疫及發炎調節相關。研究發現，小鼠長期暴露 UVB 下，體內 Th1/Th2 平衡會傾向於 Th2 活化⁽⁴⁾。此外，UVB 被用於治療牛皮癬關節炎，結果顯示可降低 Th1 和 Th17

細胞激素的分泌，而增加 Th2 細胞激素的分泌，從而改善皮膚症狀及病理狀況⁽⁷⁾。

香蕉皮作為農業副產物，具備生物活性分子，顯示出經濟價值潛力。古藥典已利用香蕉皮來敷治傷口，近期的研究則發現香蕉皮萃取物在中高極性區分物中具有強力的抗氧化特性⁽⁸⁻¹⁰⁾。香蕉皮也顯示出免疫調節潛力，例如，將 5% 的香蕉皮添加到淡水鱸魚的飼料中，可以提升其抗氧化能力並增強對病原體的免疫力⁽¹¹⁾。另外，研究指出，給予小鼠 200 mg/kg BW 的香蕉皮多酚，能降低促發炎細胞激素的分泌並減少肝臟損傷⁽¹²⁾。我們實驗室的研究也表明，香蕉皮萃取物之正丁醇區分物具有抗發炎能力⁽¹³⁾。

儘管現有研究已顯示香蕉皮具抗氧化和抗發炎作用，但對其在皮膚保護方面的效果仍缺乏具體證據。坊間對香蕉皮護膚的說法普遍存在，因此本研究旨在探討外敷或口服給予香蕉皮萃取物能否對皮膚在 UVB 照射引發的損傷發揮保護效應，並評估其對於 UVB 所誘發的發炎和免疫抑制是否有調節之影響。我們的檢測方向包括香蕉皮萃取物改善 UVB 照射後的皮膚角質細胞存活率、皮膚損傷與增厚程度、保護膠原蛋白，以及調節 Th1/Th2 細胞激素的平衡和維生素 D 代謝變化，以驗證其在保護皮膚之潛在應用價值。

材料與方法

一、實驗材料

新鮮香蕉 (*Musa* spp., cavendish sub-group AAA) 購自於高雄市蔬果市場，經洗淨後去除果肉，此時取得的香蕉皮定義為濕香蕉皮；而將香蕉皮放入 60°C 烘箱烘乾三天後取得的香蕉皮，則定義為乾香蕉皮。接著，香蕉皮的萃取流程與前人文獻方法相同⁽¹³⁾。首先將濕 (w) 或乾 (d) 香蕉皮以 95% 乙醇萃取，經 48 小時萃取後，收集萃取液以紗布過濾，再經過減壓濃縮取得濕或乾香蕉皮的酒精萃取物 (wC、dC)，兩者萃取物利用乙酸乙酯 (EA) 和水 (1:1) 混合液中進行分層，經減壓濃縮後取得來自 EA 層 (wE、dE) 或來自水層的層分物。其中，EA 層分物再經過正己烷 (Hex) 和甲醇 (MeOH) 混合液 (1:1) 再做分層，減壓濃縮後取得 Hex (wH、dH) 和 MeOH (wM、dM) 亞分層

物。此外，來自第一層的水層分物經過正丁醇 (BuOH) 和水混合液 (1:1) 再做分層，減壓濃縮後取得 BuOH (wB、dB) 和水 (wW、dW) 亞分層物。各分層物溶於乙醇或水，以 0.22 μm 濾膜過濾後作為儲存樣品液，存於 -0°C 備用。

本研究中加入作為正控制組的臺灣藜種子水萃物 (*Chenopodium formosanum* Koidz. water extract, 簡稱 CFE) 及表沒食子兒茶素沒食子酸酯 (epigallocatechin gallate, EGCG)。CFE 萃取方法同過去發表⁽¹⁴⁾，其種子來自國立屏東科技大學蔡碧仁教授實驗室，萃取過程開始先將 1 g 種子加入 5 mL 蒸餾水，於 4°C 黑暗環境中攪拌浸泡達 24 小時後，經過濾取得濾液，再經過冷凍乾燥後得到 CFE，當進行細胞實驗時，利用無菌水配製 CFE 儲存樣品液，並經過 0.22 μm 濾膜過濾，存放於 -20°C 冰箱待用。EGCG 溶液則是將 EGCG 純物質粉末 (E4143, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 以無菌磷酸鹽緩衝液 (phosphate buffered solution, PBS) 溶解配製為儲存樣品液，以 0.22 μm 濾膜過濾後置於 -20°C 備用。上述配製樣品液皆使用於細胞處理試驗與動物管餵介入試驗，而動物的皮膚塗抹介入，則將樣品製成乳液劑型，以利皮膚塗抹。其製作過程是將 6% (w/v) 試驗樣品、10% (v/v) 卵磷脂和 0.5% (v/v) α -生育酚在乙醇 (終濃度 5%) 中輕柔混合，混合液中添加磷酸二氫鉀來維持 pH 值在 6.7。接續，再將混合溶液注入高壓微噴均質機 (Microfluidics, Newton, MA, USA) 處理，固定壓力約為 5,000-30,000 psi，流速為 50-100 mL/min，經兩次循環製得奈米級試驗樣品乳劑 (nano-emulsion,

NE)。

二、皮膚角質細胞株實驗

本研究使用人類皮膚角質細胞株 HaCaT，於 T-25 flask (#156367, Nunc™, Thermo, Rockford, IL, USA) 進行繼代培養，待進行檢測時，利用刮勺收集細胞懸浮液，經 $1,000 \times g$ ，5 分鐘的離心後以含 10% fetal bovine serum (FBS; 26140095, Gibco™, Thermo) 的 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; 11995040, Gibco™) 培養液懸浮細胞，計數細胞及調整細胞密度後種入 96 微孔盤 (167008, Nunc™, 2×10^4 cells/200 μL /well) 或 6 公分培養盤 (150288, Nunc™, 1×10^6 cells/3 mL/dish)，待培養 24 小時使細胞趴附，接著移除培養液，再以 PBS 清洗後加入少量 50 μL PBS，此時移入紫外光燈箱 (UV Crosslinker, Spectroline™ XLE-1000B, 120V/60Hz) 照射 UVB (波長 312 nm，強度 30 mJ/cm²) 模擬皮膚光損傷，接著移去 PBS 後添加含有各濃度樣品或正控制組，正控制組包括 CFE 和 EGCG。接續將 96 微孔盤或 6 公分培養盤置於 37°C ，CO₂ 濃度 5% 無菌培養箱，培養 24 小時後收集細胞上清液，分析指標物；而趴附於底部的細胞則檢定細胞存活率或蛋白質。

三、細胞存活率測試

在收集 96 微孔盤上清液後，以 PBS 清洗各微孔，接著每微孔加入 55 μL 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT; M6494, Invitrogen™, Thermo) 染色劑 (0.5 mg/

表一 香蕉皮萃取物及其區分物的代稱

Table 1. Substitute names of banana peel extract and its fractions

香蕉皮和其萃取物及分層物	代稱
濕香蕉皮	w
乾香蕉皮	d
濕或乾香蕉皮乙醇萃取物	wC, dC
濕或乾香蕉皮乙醇萃取物的乙酸乙酯層分物	wE, dE
濕或乾香蕉皮乙醇萃取物的乙酸乙酯層分物之正己烷亞層分物	wH, dH
濕或乾香蕉皮乙醇萃取物的乙酸乙酯層分物之甲醇亞層分物	wM, dM
濕或乾香蕉皮乙醇萃取物的水層分物之正丁醇亞層分物	wB, dB
濕或乾香蕉皮乙醇萃取物的水層分物之水層亞層分物	wW, dW

mL，利用 DMEM 稀釋），置於 37°C，5% CO₂ 無菌培養箱，待 3 小時後再加入 100 μL/well 含 0.04 N 鹽酸的異丙醇，於振盪器中振盪 30 分鐘，使色劑溶出，再以 ELISA reader 讀取 540 nm 吸光值。本研究先以已知細胞數目對應使用此法量測的吸光值製成一標準曲線，當進行後續試驗樣品之處理試驗，所讀得的吸光值帶入此標準曲線，可以換算成細胞數目，以進行校正。

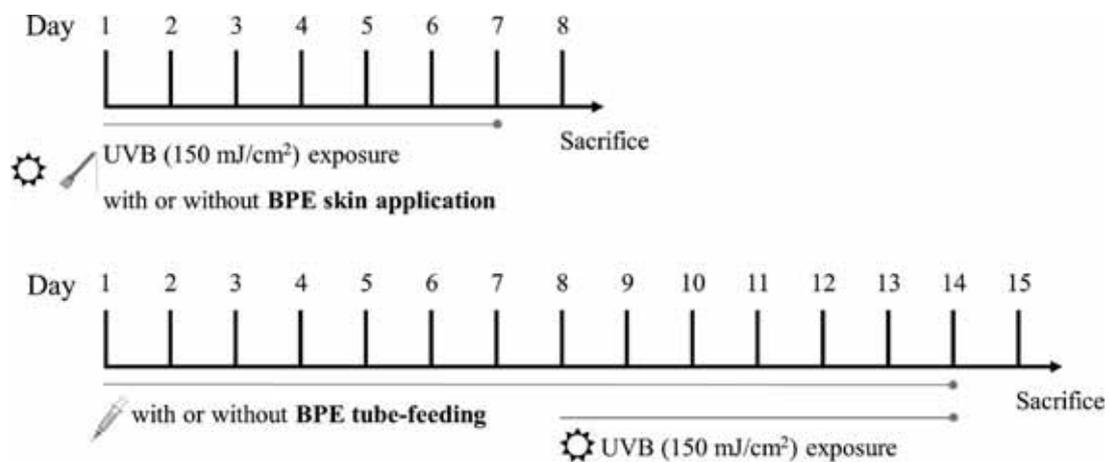
四、反應性氧分子 (reactive oxygen species, ROS) 的檢測

本檢測方法透過 ROS 可轉換 2',7'-dichlorodihydrofluorescein-diacetate (H2DCFDA) 成為 2',7'-dichlorofluorescein (DCF) 的原理，測量 DCF 量來代表 ROS 產量。承上述第二項方法，將 1×10⁶ 個細胞接種到 6 公分培養盤，培養 24 小時後，利用 30 mJ/cm² UVB 照射細胞，接續以特定濃度之試驗樣品處理細胞 3 小時。之後，將細胞收集到樣品管中，使用 5 μM H₂DCFDA (D399, Invitrogen™) 進行標記 30 分鐘，接著離心後使用 PBS 緩衝液洗滌細胞兩次。最後，使用流式細胞儀 (Accuri Cytometers, Inc., Ann Arbor, MI, USA) 測量細胞內的 DCF 螢光量。

五、動物實驗與分組設計

自國家實驗動物中心購入 8 週齡大的雌性 BALB/c 小鼠，適應兩週後進行試驗，由適應至試驗期間，小鼠皆採自由攝食標準飼料 (5001, LabDi-

et, Richmond, IN, USA)。飼育環境溫度 23 ± 2°C，相對濕度 55 ± 5%，光照與黑夜週期各 12 小時。進入試驗期，小鼠分為樣品的皮膚塗抹與管餵補充兩項介入試驗，第一項試驗中小鼠依據體重分為五組 (每組 8-10 隻)，分別是控制組 (Ctrl)、UVB 照射對照組 (Vehicle)、塗抹背景試劑組 (NE)、塗抹香蕉皮萃取物組 (NE-BPE)、塗抹表沒食子兒茶素沒食子酸酯組 (NE-EGCG)。接著將所有小鼠背部體毛刮除後，除 Ctrl 組外，皆移入 UV Crosslinker 燈箱接受 UVB 照射 (波長 315 nm，強度 150 mJ/cm²)，照射劑量由偵測機監測，每日早上固定時間照射且連續 7 天，每日照射完後會使用 Quick Mini Caliper (Vernier caliper, #1202-100, Beijing C & C Trade center, Beijing, China) 測量小鼠的皮膚厚度。測量完後除 Ctrl 與 Vehicle 組外，其餘組別給予 NE (200 μL)、NE-BPE (200 μL 含 10.6 mg BPE)、NE-EGCG (200 μL 含 0.49 mg EGCG) 的塗抹再放回飼養籠。前人文獻指出乳化劑包埋 EGCG 緩解 UVB 引起皮膚損傷⁽¹⁵⁾，因此以 NE-EGCG 作為正控制組。此試驗的第 8 天犧牲實驗小鼠，收集小鼠各組織，其中，背部和耳部的皮膚組織會進行組織學觀察。第二項為管餵補充實驗中，10 週齡的小鼠依據體重分為四組 (每組 8 隻)，分別是控制組 (Ctrl)、UVB 對照組 (Vehicle)、香蕉皮水層區分物 BPE (80 mg/kgBW)、臺灣藜種子水萃物 CFE (100 mg/kgBW)。實驗過程中管餵補充水 (Ctrl 和 Vehicle) 或上述樣品連連續 14 天；在第 8 天時，所有小鼠同第一項試驗，背部體毛刮除並移入紫外



圖一 動物實驗流程圖

Figure 1. Flow chart of animal experiments

光燈箱，UVB劑量和照射後測量小鼠的皮膚厚度皆相同程序，此程序連續7天，即至該試驗的第14天。實驗第15天以CO₂窒息法犧牲實驗小鼠，收集小鼠血清和組織檢體，其中，背部和耳部的皮膚組織會進行組織學觀察。本研究取得義守大學動物研究核准證號IACUC-ISU-102-16，並依據行政院農業部實驗動物照護相關規範進行實驗動物之處置。

六、脾臟初代細胞之取得與培養

小鼠犧牲後以75%酒精噴灑腹面，剪開腹膜並取出脾臟，置於3.5公分培養盤(150460, Nunc™)，並加入含有10% FBS和1% 抗生素(A5955, Sigma-Aldrich)的Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1,640 (11875085, Gibco™) 培養液。以滅菌針筒尾頂端將脾臟磨碎，使成懸浮液。室溫下以1,500 ×g 離心10分鐘後，取其pellet，拍散後加入1 mL的ACK lysing buffer (A1049201, Gibco™) 去除紅血球。靜置1分鐘後加入Hanks' balanced salt solution (HBSS; H9394, Sigma-Aldrich) 終止ACK作用，以1,500 ×g 離心10分鐘後去除掉上清液再加入HBSS緩衝液，重複此步驟3次，洗去ACK lysing buffer。加入前述使用的RPMI 1,640 培養液2 mL，使成細胞懸浮液，再以trypan blue 染色來計算細胞總數。在調整細胞為1(10⁷ cells/mL，取500 μL 培養於48孔盤(150687, Nunc™)，再加入前述RPMI 1,640 培養液或脂多醣(lipopolysaccharide, LPS, 10 μg/mL; L4516, Sigma-Aldrich) 或刀豆蛋白A (concanavalin A, Con A, 1.25 μg/mL; C5275, Sigma-Aldrich)，使最終細胞密度為5(10⁶ cells/mL，置於37°C，5% CO₂ 無菌培養箱中，培養48小時後，收集上清液保存於-20°C，等待分析細胞激素。

七、免疫細胞族群分析

脾臟初代細胞(1×10⁶ cells)以cell staining buffer (420201, BioLegend, San Diego, CA, USA) 懸浮，使用不同螢光標誌的單株抗體(BioLegend) 進行免疫染色。細胞先與anti-mouse CD16/CD32 抗體(101301)於4°C反應10分鐘避免非專一性結合，再分別與anti-mouse PE-CD3 (100205)、FITC-CD4 (100405)、APC-CD8 (140410) 和 FITC-CD69 (104505) 抗體於4°C反應30分鐘。使用流式細胞儀(Accuri Cytometers Inc., Ann Arbor,

MI, USA) 分析免疫細胞族群比率，並以FlowJo軟體進行數據處理。

八、酵素連結免疫吸附法(ELISA)檢定細胞激素和血清維生素D含量

本研究利用商業ELISA試劑組檢定細胞上清液中細胞激素含量(eBioscience, San Diego, CA, USA)或血清中25-(OH)維生素D₃含量(Enzo Life Sciences, Long Island, NY, USA)。於平底96微孔盤加入各適量稀釋的抗細胞激素一級抗體100 μL/well，置於4°C反應12小時。接著以wash buffer洗4次，沖去未結合的抗體，再加入blocking buffer 200 μL/well，以減少非特異性的結合。室溫反應1小時後，以wash buffer洗4次，加入已知濃度的標準品及適當稀釋過的待測樣品，室溫反應2小時後，以wash buffer洗4次，加入具有生物素連結的抗細胞激素二級抗體100 μL/well，室溫反應1小時後，以wash buffer洗4次，加入Avidin-HRP 100 μL/well，室溫反應30分鐘後，以wash buffer洗5次。最後加入100 μL/well受質TMB避光反應20分鐘，再加入50 μL/well 2N 硫酸溶液終止反應，於ELISA reader 測定波長450nm的吸光值。

九、病理組織切片分析

小鼠犧牲後，取下其背部皮膚和耳朵浸泡於10% v/v 福馬林溶液(3933, J.T.Baker, Phillipsburg, NJ, USA)，委託新柏氏病理實驗中心(新北市，臺灣)進行蘇木精-伊紅(hematoxylin and eosin, H&E)和免疫化學染色。組織切片染色後以倒立式光學顯微鏡(Eclipse TS100, Nikon, Japan)連接微影像電子目鏡(YOVICA, 天將醫療器材科技有限公司, 新北市，臺灣)觀察組織的病理變化。

十、統計方法

所有實驗數據皆來自於至少三次獨立試驗的結果，以平均值(means) ±標準偏差(SD)或標準誤差(SEM)表示，這些數據利用Student's *t*-test 或Duncan's multiple range test 判斷兩組或各組間的統計差異；紫外線照射實驗的七天皮膚厚度紀錄，各組間數據使用線性混合模型(linear mixed model) 進行比較。上述兩組或各組比較差異設定*P*值小於0.05，認定具統計學意義。

結 果

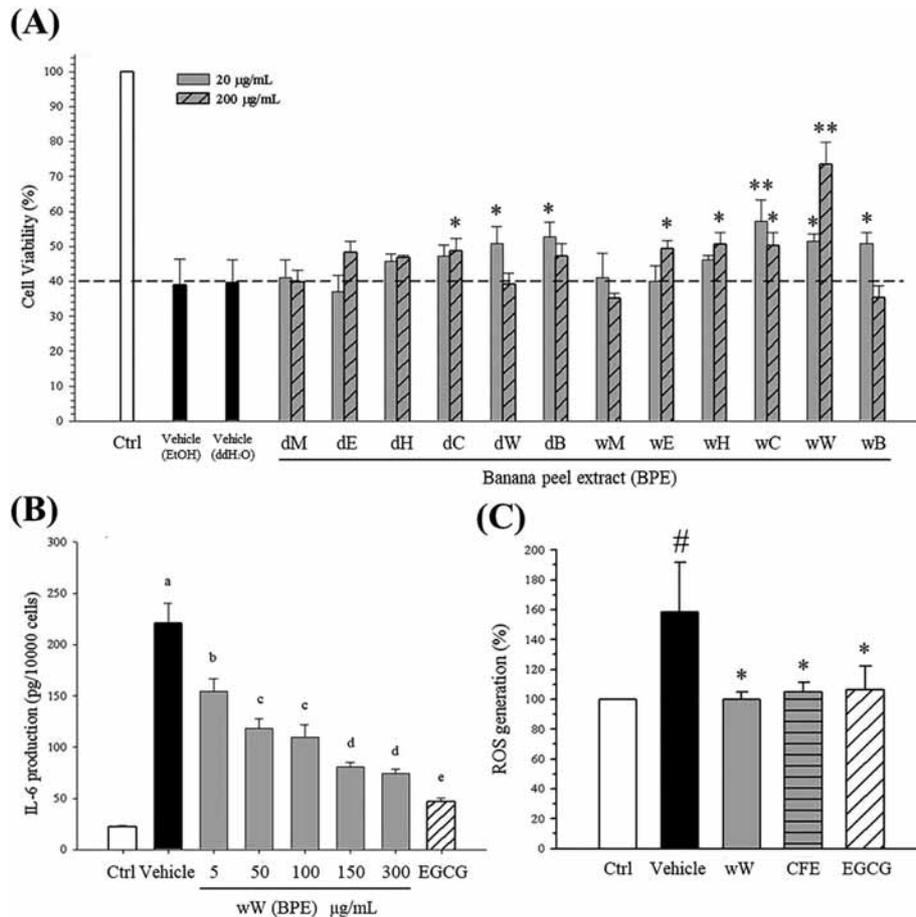
一、香蕉皮萃取物對細胞培養模式下 UVB 照射角質細胞損傷之保護作用

本實驗首先測試香蕉皮萃取物 (banana peel extract, BPE) 各分層的區分物對抗 UVB 造成皮膚細胞損傷的能力, 透過檢測回復 UVB 造成細胞損傷的存活率 (cell viability) 來判斷。結果如圖二, 當角質細胞株照射 30 mJ/cm² UVB 後, 細胞存活率降低為 40-45%, 而當照射 UVB 後給予香蕉皮各萃取物 20 或 200 µg/mL 的處理, 發現濕香蕉皮萃取物具有提升 UVB 照射引起細胞損傷的存活狀況, 其中, 這些分層萃取物中以水層分物 (wW) 在 200 µg/mL

增加細胞存活至 60-70%, 最為突出, 後續實驗以 wW 樣品做進一步分析 (圖二 A)。我們檢定樣品對 UVB 損傷指標之影響, 結果顯示 wW 顯著降低 UVB 誘發的 IL-6 及 ROS 含量, 和正控制組-臺灣蔡種子水萃物 (CFE, 150 µg/mL) 和表沒食子兒茶素沒食子酸酯 (EGCG, 20 µM) 效應相同, 表示香蕉皮水萃物 (wW) 呈現劑量效應降低 IL-6 的生成量, 並會抑制 ROS 的產生成量 (圖二 B、C)。

二、香蕉皮萃取物塗抹介入對 UVB 誘發皮膚光損傷動物模式的緩解作用

上述實驗可知 wW 最高劑量 (200 µg/mL) 為有效劑量, 透過細胞組織比例推算動物使用劑量⁽¹⁴⁾, 同時, 為方便標示, 後續動物實驗介入的 wW



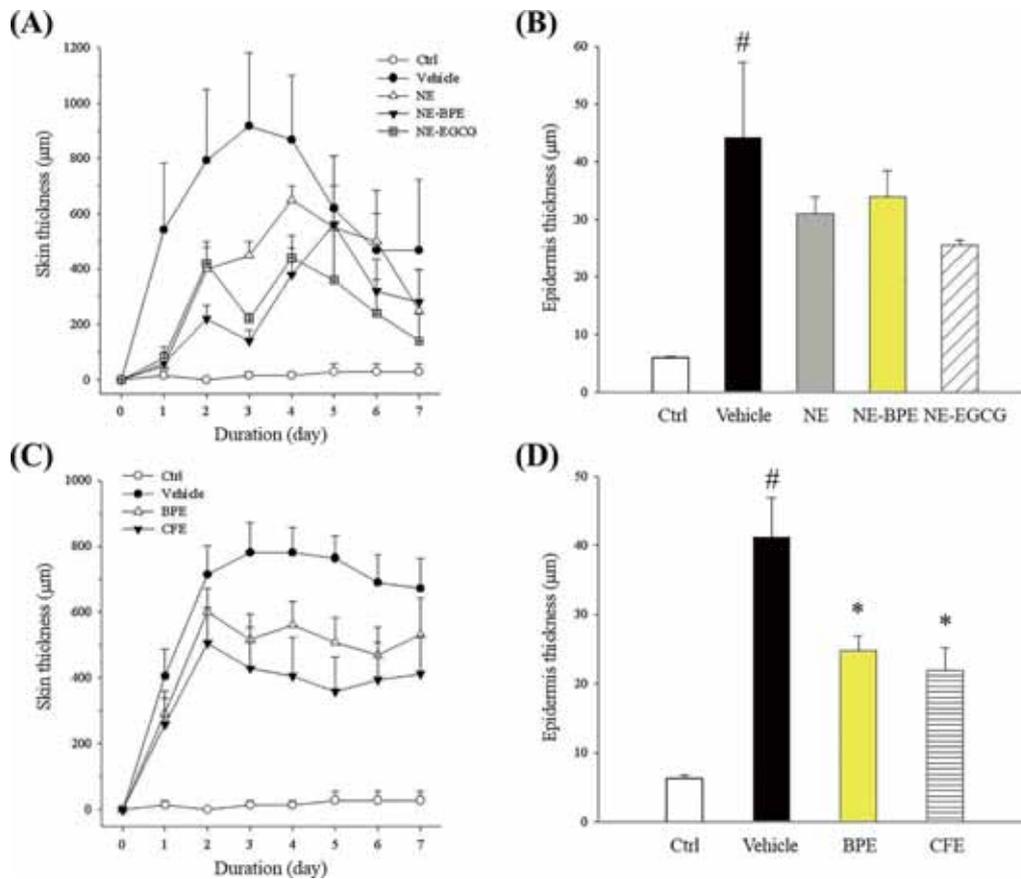
圖二 細胞模式下香蕉皮萃取物之區分物對紫外光 B 誘發皮膚損傷指標的影響。

Figure 2. Effects of different fractions of banana peel extract on parameters of skin damage in a UVB-irradiated HaCaT keratinocytes culture model. Parameters include UVB-irradiated cell viability (A), the production of IL-6 (B) and ROS (C). In the panel (C), the concentration of wW (BPE) was 200 µg/mL. EGCG and CFE at concentrations of 20 µM and 150 µg/mL, respectively were as positive controls. Compared with the vehicle, the statistical difference was analyzed by Student's t-test and indicated a significance as **P* < 0.05 or ***P* < 0.01. Compared with the Ctrl, the statistical difference was analyzed indicated a significance as #*P* < 0.05.

香蕉皮萃取分層物即以 BPE 簡稱之。在 BPE 塗抹於小鼠皮膚的介入試驗結果中（圖三），相較於未照射 UVB 的控制組（Ctrl）小鼠，照射 UVB 的對照組（Vehicle）組小鼠於照射第三天背部皮膚厚度達最高值，接續幾天皮膚厚度則緩慢下降（圖三 A）。而照射 UVB 後給予試驗樣品的結果顯示，連續七天的皮膚厚度作圖在 NE-BPE 和 NE-EGCG 組別，皆呈現降低趨勢，只是，作為乳化劑包覆樣品的 NE 組卻也有偏低的皮膚厚度。這項實驗在暴露 UVB 連續 7 天後的隔天，取小鼠背部皮膚做染色切片，同樣觀察到 Vehicle 組皮膚厚度顯著高於 Ctrl 組；而 NE、NE-BPE、NE-EGCG 組具降低受損皮膚厚度的趨勢，但並無顯著的結果（圖三 B）。

三、香蕉皮萃取物口服介入對 UVB 誘發皮膚光損傷動物模式的緩解作用

在管餵試驗樣品的介入中，與塗抹實驗一致，Vehicle 組在 UVB 照射 3 天後，背部皮膚厚度達高峰值，接著，厚度維持直至第 6 天才趨於下降。當照射前兩週即開始給予 BPE 或 CFE 的管餵介入，相較 Vehicle 組，UVB 照射後第 2 天到第 6 天皮膚厚度皆呈現明顯下降幅度（圖三 C），暴露 UVB 七天後之隔天犧牲小鼠取皮膚組織切片同樣發現，BPE 小鼠的表皮厚度顯著低於 Vehicle 組小鼠（圖三 D， $40.5 \pm 5.8 \mu\text{m}$ vs. $25.4 \pm 3.3 \mu\text{m}$ ；以及圖四 A、B），顯示 BPE 的管餵補充有助改善皮膚受 UVB 而損傷增厚的現象。



圖三 利用皮膚塗抹或管餵補充香蕉皮萃取物對小鼠連續暴露 UVB 下皮膚厚度量測值與組織切片表皮厚度之影響。

Figure 3. Effects of BPE treatments via tube-feeding and skin application on skin damage in UVB-irradiated mice. Skin thickness (A, B) and epidermis thickness (C, D) were measured to evaluate the status of skin damage. Bar values are expressed as means \pm SEM (n = 8). Statistical differences were analyzed by using Student's *t*-test. Significance compared to the vehicle group is indicated by **P* < 0.05, and significance compared to the Ctrl group is indicated by #*P* < 0.05.

四、香蕉皮萃取物口服介入對 UVB 誘發皮膚光損傷動物模式之皮膚中膠原蛋白的改變

皮膚中膠原蛋白 (collagen) 和組織層結構是否完整關係密切，本試驗利用免疫化學染色檢定在連續照射 UVB 後犧牲小鼠皮膚膠原蛋白表現量，染色觀察顯示 (圖四 C)，受到 UVB 照射小鼠的背部表皮層中 collagen type I 表現量降低。然而，給予 BPE 或 CFE 管餵介入的小鼠，其背部 collagen type I 分布量高於 Vehicle 組，而趨近於 Ctrl 組，顯示兩種樣品補充對受 UVB 影響造成 collagen type I 破壞的情況有減緩效果。

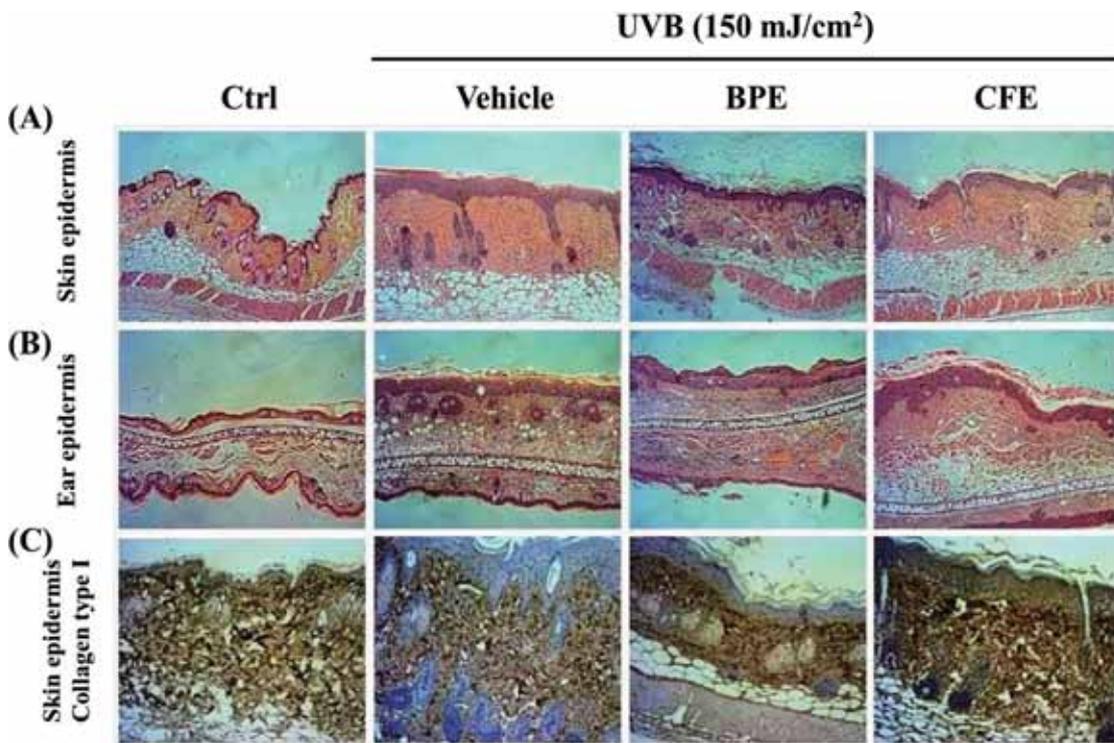
五、香蕉皮萃取物口服介入對 UVB 誘發皮膚光損傷動物模式之脾臟 Th1/Th2 細胞激素的影響

根據表二的結果，與 Vehicle 組相比較，Ctrl 組的 BALB/c 小鼠在連續暴露於 UVB 後，利用裂殖素 Con A 活化脾臟細胞中的 T 細胞，其 IFN- γ 的分泌

量顯著降低。同時，Th2 細胞激素 IL-4 和 IL-6 的分泌量則有所增加，其中 IL-6 的分泌量明顯升高，這表明 UVB 照射會顯著改變 Th1 和 Th2 細胞的細胞激素概況 (cytokine profile)。當補充 BPE 後，脾臟細胞中 IFN- γ 的分泌量顯著回復，儘管 IL-6 的分泌量呈下降趨勢，但並未達到顯著之抑制效果。相對而言，正控制組 CFE 則展現出顯著抑制 IL-6 分泌的能力，但對於 UVB 引起的 IFN- γ 分泌量之降低，CFE 卻顯示出加強其降低效應。

六、香蕉皮萃取物口服介入對 UVB 誘發皮膚光損傷動物模式之血清維生素 D 含量的影響

透過評估 Th1/Th2 細胞激素的比例，我們發現四組並無統計上的差異，由平均值來觀察，UVB 連續照射會使小鼠脾臟中的 Th1/Th2 細胞激素比例降低，並傾向於 Th2 型 (圖五 A)。而 BPE 的給予則使這一平衡比例回復至接近正常的 Ctrl 組狀態。由



圖四 管餵補充香蕉皮萃取物對小鼠連續暴露 UVB 下表皮厚度與膠原蛋白表現量之影響。

Figure 4. Effects of BPE treatment via tube-feeding on skin thickness and expression of collagen type I in UVB-irradiated mice. The H&E stained mouse skin epidermis (A) and ear epidermis (B). The immunohistochemistry microscopic images show collagen type I stained mouse skin epidermis in a dark green color (C).

表二 蕉皮萃取物 (BPE) 對小鼠在連續暴露於 UVB 下脾臟細胞分泌細胞激素的影響

Table 2. Effects of BPE supplement on cytokine profiles of splenocytes in UVB-irradiated micescale1.21.2

	Con A						LPS
	TNF- α (pg/mL)	IFN- γ (ng/ mL)	TGF- β (ng/mL)	IL-10 (ng/mL)	IL-4 (pg/mL)	IL-6 (ng/mL)	IL-6 (ng/mL)
Ctrl	67.7 \pm 36.5	13.6 \pm 4.30	1.18 \pm 0.09	5.06 \pm 0.71	140 \pm 35	1.67 \pm 0.28	1.44 \pm 0.80
Vehicle	55.0 \pm 24.8	#9.8 \pm 1.60	0.92 \pm 0.07	5.97 \pm 1.33	194 \pm 21	#3.14 \pm 0.48	2.06 \pm 1.10
BPE	48.5 \pm 18.6	*14.4 \pm 1.80	1.06 \pm 0.09	4.87 \pm 1.21	141 \pm 22	3.30 \pm 0.48	1.67 \pm 0.47
CFE	19.3 \pm 9.60	*4.3 \pm 0.30	0.98 \pm 0.05	6.64 \pm 1.85	208 \pm 29	*1.97 \pm 0.29	1.48 \pm 0.77

¹ 取得的小鼠脾臟細胞經靜置穩定後，利用 Con A 或 LPS 刺激培養 24 小時，收集上清液檢定細胞激素。

² #表示 Vehicle 組和 Ctrl 組呈現顯著差異， $P < 0.05$ ；*表示和 Vehicle 組比較呈現顯著差異， $P < 0.05$ 。

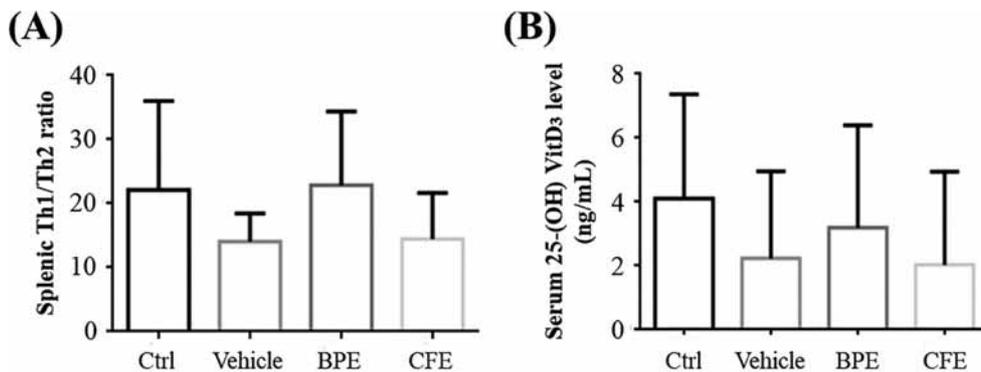
於皮膚暴露 UVB 會與維生素 D 的生成有關，且維生素 D 又與免疫細胞的調節關係密切，因此本研究收集小鼠血清分析 25-(OH) 維生素 D₃ 含量，結果如圖五 B，Vehicle 組小鼠血清 25-(OH) 維生素 D₃ 含量平均值偏低，但由於組別小鼠個體數值的差異大，並無呈現明顯改變，而試驗樣品 BPE 的管餵補充，在血清 25-(OH) 維生素 D₃ 含量平均值有回復，但同樣因個體差異性大，並無顯著的效應。

討 論

本研究之 UVB 照射誘發皮膚損傷實驗中，我們使用角質細胞株 HaCaT 為模式細胞，評估香蕉皮萃取物各區分物的抗光損傷作用，篩選出最效力水層區分物，並在動物實驗中將該區分物（細胞實

驗稱 wW，動物實驗簡稱 BPE）塗抹於 UVB 照射引起的損傷部位，結果顯示具緩解損傷的效果，驗證細胞模式作為篩選潛力樣品的可靠性。此外，我們發現通過管餵給予 BPE 同樣能降低皮膚光損傷，這表明 BPE 在經過消化吸收後依然能改善皮膚狀況，表示其保護效應不僅限於直接作用在損傷部位，可能涉及更為複雜的系統性機制。

本研究中並未分離純化香蕉皮水層區分物中的化合物，而過去文獻⁽¹³⁾，香蕉皮萃取物之正丁醇區分物所分離的化合物，包括 oleamide、5-hydroxymethylfurfural (5-HMF)、guaiol 等具有抗發炎的效果，其中，5-HMF 兼具溶於水和酒精特性，因此我們預測水層區分物會含有 5-HMF，而除了抗發炎效應外，根據前人文獻，5-HMF 奈米孔洞二氧化矽包覆物對於紫外光誘發人類皮膚纖維母細胞的光



圖五 管餵補充香蕉皮萃取物對小鼠連續暴露 UVB 下脾臟中 Th1/Th2 免疫效應與維生素 D 含量的影響。

Figure 5. Effects of BPE treatments via tube-feeding on the ratio of splenic Th1/Th2 immune response (A) and sera 25-(OH) VitD₃ levels (B) in UVB-irradiated mice. After sacrifice, mice spleen cells were collected for the measurement of Th1 and Th2 cell immune responses. We calculated the production of IFN- γ to divide the production of IL-4 as the ratio of Th1/Th2. In addition, sera were collected for vitamin D detection, which was assayed using competitive ELISA method. Bar values are expressed as means \pm SEM (n = 5-8). Statistical differences were analyzed by using Student's *t*-test.

老化具保護效應⁽¹⁶⁾。由此，本研究中 NE-BPE 的皮膚塗抹能緩和 UVB 誘發的皮膚損傷，推測緩和效果應有部分來自於 5-HMF 的貢獻。

本研究中相較於皮膚塗抹 NE-BPE，管餵補充 BPE 展現對皮膚的保護效果更佳，顯示 BPE 經過人體消化吸收後對皮膚保護效果優於皮膚塗抹，由於 5-HMF 結構不穩定，推測管餵補充的效應並非來自 5-HMF，應是由其他飲食因子所主導。前人文獻中已表明，一些飲食功能性成分，例如膠原蛋白水解物，推知攝取後會在皮膚重新組成膠原蛋白，因此對於皮膚受 UVB 的損傷具保護效果；此外，具抗氧化力的保健素材，例如多酚類和黃酮類，由於具降低 ROS 之效，因此習知這些成分能對抗 UVB 引發對皮膚的氧化壓力，而緩解皮膚損傷⁽¹⁷⁾。透過極低共溶溶液萃取香蕉皮極性層，取得豐富多酚類和黃酮類⁽¹⁸⁾。近來一篇回顧文章指出，黃酮類化合物在腸道經水解後以無糖基 (aglycone) 形式吸收，並在肝臟中代謝後，可透過血液循環再經過皮膚屏障後，分布並累積在皮膚中，因此作用於角質細胞或其他皮膚細胞，發揮其生物活性展現皮膚保護或修復功能⁽¹⁹⁾，此可能說明口服 BPE 發揮皮膚保護的機制之一。故未來對於 BPE 水層區分物中成分的鑑定，值得分析和檢定。

前人文獻指出，UVB 會誘導免疫能力的抑制效應。Abo Elnazar 等人的研究發現，UVB 照射會造成小鼠體內 Th1 細胞激素表現量降低，例如 IL-12，而 Th2 細胞激素表現量上升，例如 IL-10⁽⁴⁾。另外，Skobowiat 等人觀察到 UVB 會降低小鼠脾臟細胞中 IFN- γ 的生成量，並提出該效應與下丘腦-腦下垂體-腎上腺 (HPA) 軸關係密切⁽²⁰⁾。本研究同樣觀察到小鼠暴露於 UVB 照射後，脾臟細胞的 IFN- γ 生成量會減少；IL-4 和 IL-10 等 Th2 細胞激素生成量則些微提高，屬於 Th2 細胞激素兼具促發炎性細胞激素的 IL-6 生成量則明顯增加。此外，由免疫細胞族群數據可知，活化 T 細胞族群 (CD3⁺CD69⁺) 的比例 (相較於 Ctrl 組，78.2 \pm 10.9% vs. 90.0 \pm 6.03%， $P = 0.08$) 呈現下降的趨勢。由此可知，UVB 的照射會使免疫作用傾向壓制 Th1，卻提高 Th2 效應細胞的比例。

由於我們先前的研究顯示，香蕉皮萃取物之正丁醇區分物在 LPS 誘發小鼠的急性發炎模型中能降低 Th1/Th2 細胞激素的平衡，從而抑制發炎反應⁽¹³⁾。因此，本研究預期香蕉皮萃取物之水區分層

能在本研究模型中對 Th1/Th2 平衡進行調節。我們的結果顯示，管餵補充 BPE 能將 UVB 照射後的 Th1/Th2 比例調升，使其回復至接近無照射 UVB 小鼠 (即 Ctrl 組) 的平衡狀態，顯示 BPE 具調節輔助型 T 細胞分泌細胞激素之能力。而本研究的正控制組-CFE 展現降低 UVB 誘發皮膚損傷的效用，和先前發表結果一致⁽¹⁴⁾，但是對於 Th1/Th2 比例的調升並無明顯作用，顯示和 BPE 不同效應。表示兩種緩解皮膚損傷的樣品在免疫調節上的不同，並凸顯 Th1/Th2 平衡與緩解皮膚損傷的因果關係仍需進一步探討。

習知陽光中的紫外線會促進皮膚中維生素 D 前驅物的合成，進而增加活化型態的維生素 D 含量。然而，本研究中，連續暴露於 UVB 的小鼠，相較於未暴露於 UVB 的小鼠，其血清中 25-(OH) 維生素 D₃ 的含量偏低。此一觀察推測可能與皮膚受到 UVB 損傷後，維生素 D 前驅物結構受到破壞而降低維生素 D 的合成。在評估紫外線暴露量和維生素 D 合成量的研究中，發現使皮膚出現一個最小紅斑 (one minimal erythema) 的紫外光劑量之三分之一，維生素 D 的合成量會達到最大值；當紫外線達到引發一個最小紅斑的劑量時，維生素 D 的合成便會停止⁽²¹⁾。過去研究已知，維生素 D 具有降低 Th1 與 Th17 反應；而增加 Th2 與 Treg 反應之作用，因此傾向於抑制免疫 (immunosuppression) 作用^(5, 22)。然而，本研究各組的 25-(OH) 維生素 D₃ 平均值含量雖呈現 UVB 照射後下降之傾向，但個體數值差異過大，並無統計意義。又，雖然 BPE 或 CFE 影響 Th1/Th2 比例和 25-(OH) 維生素 D₃ 的改變趨勢相同，仍無法解釋 UVB 照射後其維生素 D 含量和 Th1/Th2 比例改變的關係。

結 論

本研究透過細胞和動物實驗驗證了香蕉皮萃取物的水層區分物對 UVB 誘發的皮膚損傷的保護效果。結果顯示，該萃取物能有效降低 UVB 引起的 IL-6 和活性氧物質生成，並改善膠原蛋白損失。此外，口服補充香蕉皮萃取物也能調整 UVB 改變的 Th1/Th2 細胞激素平衡，降低促發炎細胞激素的生成。同時，研究指出 UVB 照射可能影響維生素 D 的代謝，與免疫系統的調節相關。雖然觀察到 UVB 暴露後 25-(OH) 維生素 D₃ 的含量有下降趨勢，但

因個體數據差異，尚無法得出明確結論。未來研究可進一步探討香蕉皮萃取物的具體成分及其在皮膚保護和免疫調節中的作用，為其在皮膚護理中的應用提供更深入的科學依據。

致 謝

本研究之經費來自國家科學及技術委員會（簡稱國科會，舊稱科技部）的研究計劃MOST102-2632-B-214-001-MY3、MOST 109-2314-2314-B-214-004與 MOST 111-2221-E-003-033，感謝國科會的經費支持。

利益衝突

本文作者皆無利益衝突。

參考文獻

- Choi HK, Kim DH, Kim JW, Ngadian S, Sarmidi MR, Park CS. *Labisia pumila* extract protects skin cells from photoaging caused by UVB irradiation. *J Biosci Bioeng.* 2010;109(3):291-296.
- Schwarz T. 25 years of UV-induced immunosuppression mediated by T cells-from disregarded T suppressor cells to highly respected regulatory T cells. *Photochem Photobiol.* 2008;84:10-18.
- Rana S, Byrne SN, MacDonald LJ, Chan CY, Halliday GM. Ultraviolet B suppresses immunity by inhibiting effector and memory T cells. *Am J Pathol.* 2008; 172(4): 993-1004.
- Abo Elnazar SY, Ghazy AA, Ghoneim HE, Taha AR, Abouelella AM. Effect of ultra violet irradiation on the interplay between Th1 and Th2 lymphocytes. *Front Pharmacol.* 2015;6:56.
- Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Photoaging: UV radiation-induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process in the skin. *Inflamm Res.* 2022;71(7-8):817-831.
- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007; 357(3):266-281.
- Alyaa F, Aya T, Basil E, Gehan S, Narrow band ultraviolet B therapy deactivates Th1/Th17 pathway and activates Th2 cytokines secretion in Egyptian psoriatic arthritis patients. *J Radiat Res Appl Sci.* 2020;13(1):356-361.
- Anal AK, Jaisanti S, Noomhorm A. Enhanced yield of phenolic extracts from banana peels (*Musa acuminata* Colla AAA) and cinnamon barks (*Cinnamomum varum*) and their antioxidative potentials in fish oil. *J Food Sci Technol.* 2014;51(10):2632-2639.
- Arun KB, Persia F, Aswathy PS, Chandran J, Sajeev MS, Jayamurthy P, Nisha P. Plantain peel-a potential source of antioxidant dietary fibre for developing functional cookies. *J Food Sci Technol.* 2015; 52(10): 6355-6364.
- Hikal WM, Said-Al Ahl HAH, Bratovic A, Tkachenko KG, Sharifi-Rad J, Kačániová M, Elhourri M, Atanassova M. Banana Peels: A Waste Treasure for Human Being. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2022; 2022: 7616452.
- Giri SS, Jun JW, Sukumaran V, Park SC. Dietary administration of banana (*Musa acuminata*) peel flour affects the growth, antioxidant status, cytokine responses, and disease susceptibility of rohu, *Labeo rohita*. *J Immunol Res.* 2016;2016:4086591.
- Wang R, Feng X, Zhu K, Zhao X, Suo H. Preventive activity of banana peel polyphenols on CCl4-induced experimental hepatic injury in Kunming mice. *J Exp Ther Med.* 2016;11(5):1947-1954.
- Hong YH, Kao C, Chang CC, Chang FK, Song TY, Houg JY, Wu CH. Anti-inflammatory and T-cell immunomodulatory effects of banana peel extracts and selected bioactive components in LPS-challenged in vitro and in vivo models. *Agriculture.* 2023;13(2):451.
- Hong YH, Huang YL, Liu YC, Tsai PJ. *Djulius* (*Chenopodium formosanum* Koidz.) water extract and its bioactive components ameliorate dermal damage in UVB-irradiated skin models. *Biomed Res Int.* 2016;2016:7368797.
- Avadhani KS, Manikkath J, Tiwari M, et al. Skin delivery of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and hyaluronic acid loaded nano-transfersomes for antioxidant and anti-aging effects in UV radiation induced skin damage. *Drug Deliv.* 2017;24(1):61-74.
- Niu X, Wang Z, Zhang L, Quan Y, Wei K. Experimental study of the protective effect of mesosilica-supported 5-hydroxymethylfurfural on UV-induced aging of human dermal fibroblasts. *RSC Adv.* 2018; 8(44): 25021-25030.
- Morifuji M. The beneficial role of functional food components in mitigating ultraviolet-induced skin damage. *Exp Dermatol.* 2019;28 Suppl 1:28-31.
- Cegledi E, Dobrosłavić E, Pedisić S, Magnabosca I, Zorić M, Pavić R, Šuto M, Štargl O, Repajić M, Elez Garofulić I. Green approaches for the extraction of banana peel phenolics using deep eutectic solvents. *Molecules.* 2024; 29(15):3672.
- Čižmárová B, Hubková B, Tomečková V, Birková A. Flavonoids as promising natural compounds in the prevention and treatment of selected skin diseases. *Int J Mol Sci.* 2023;24:6324.
- Skobowiat C, Postlethwaite AE, Slominski AT. Skin exposure to ultraviolet B rapidly activates systemic neuroendocrine and immunosuppressive responses. *Photochem Photobiol.* 2017;93(4):1008-1015.
- Youl PH, Janda M, Kimlin M. Vitamin D and sun protection: the impact of mixed public health messages in Australia. *Int J Cancer.* 2009;124:1963-1970.
- Honda T, Miyachi Y, Kabashima K. Regulatory T cells in cutaneous immune responses. *J Dermatol Sci.* 2011;63 (2):75-82.

香蕉皮萃取物對紫外光誘發皮膚損傷的保護效果及免疫調節功能

陳駿威¹ 張富貴² 張基昌^{3,4} 洪哲穎^{5,6*} 洪永瀚^{7*}

¹國立臺灣大學食品科技研究所

²義守大學醫學科學與生物科技學系

³義大醫院婦產部

⁴義大大昌醫院婦產部

⁵義守大學營養學系

⁶義守大學化學工程學系

⁷國立臺灣師範大學營養科學學位學程

(收稿日期：113 年 10 月 21 日。接受日期：114 年 01 月 06 日)

摘要 紫外線 B (UVB) 是導致皮膚損傷及光老化的主要因素之一。本研究旨在探討香蕉皮萃取物對 UVB 誘發皮膚光損傷的保護作用，並評估其對免疫反應及維生素 D 代謝的影響。首先，我們利用細胞培養實驗分析不同分層的香蕉皮萃取物的抗光損傷效果。結果顯示，水層區分物 (wW) 在 200 µg/mL 濃度下顯著提高 UVB 照射後角質細胞的存活率，並降低 IL-6 及活性氧物質 (ROS) 的產生。在後續動物實驗中將該水層區分物以 BPE 簡稱。在動物實驗中，對照組小鼠在 UVB 照射後皮膚厚度顯著增加，而塗抹 BPE (10.6 mg/mouse) 的組別則顯示皮膚厚度有明顯減少。此外，先行管餵補充 BPE (80 mg/kgBW) 有效降低 UVB 引起的表皮厚度增加，並改善膠原蛋白的損失。另外，UVB 照射導致小鼠脾臟中 IFN- γ 生成量顯著降低，而 IL-6 生成量則增加。值得注意的是，BPE 的補充能提高 IFN- γ 的生成，並降低 IL-6 的生成，顯示出調節 Th1/Th2 比例的潛力。綜上所述，本研究證實 BPE 在抗 UVB 光損傷及調節免疫反應的潛力，可為皮膚保護素材的應用提供重要參考。

關鍵字：紫外光 B、皮膚損傷、香蕉皮萃取物、免疫調節

* 通訊作者：洪永瀚、洪哲穎

通訊地址：116325 台北市文山區汀州路四段 88 號

電話：+886-2-7749-6296；Tel: +886-7-6151100 ext. 7915

電子郵件：yonghan@ntnu.edu.tw；jyhong@isu.edu.tw