

원저

石門(CV₅) 艾灸가 雌性 白鼠의 3 β -hydroxysteroid
dehydrogenase/ Δ^5 - Δ^4 isomerase (3 β -HSD)의
發顯 樣相에 미치는 影響

최영순* · 안성훈* · 구성태* · 이문호** · 김경식* · 손인철*

ABSTRACT

Effects of Moxibustion at the CV5(Serk-Moon) on the Expression of
3 β -Hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ^5 - Δ^4 isomerase (3 β -HSD)
in Ovary of the Rats.

Choi Young-Sun*, Ahn Sung-Hun*, Koo Sung-Tae*,
Lee Mun-Ho**, Kim Kyung-Sik*, Sohn In-Chul*

* Dept. of Acupuncture and Moxibustion, School of Oriental Medicine, Wonkwang Univ.

** Dept. of Acupuncture and Moxibustion, School of Oriental Medicine, Semyung Univ.

We demonstrated the moxibustion on CV5(Serk-Moon) and CV3(Chung-Guk), as we have known contraceptive acupuncture point and pregnancy acupuncture point in oriental medicine, effected on concentration of progesteron and estrogen. As the reports, 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ^5 - Δ^4 isomerase (3 β -HSD) is an enzyme that has catalytic oxidation and isomerase reaction on steroidhormon synthase including progesteron and estrogen. So we observated the concentration and mass of 3 β -HSD by immuno-chemicalstain, western blot and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in rat ovary. In results, we detected that the mass of 3 β -HSD decreased significantly in moxibustion treated group on CV5(p \leq 0.05) in rat ovary and proposed that the moxibustion of CV5 make possible to contraception because of blocking estrogen synthesis by 3 β -HSD decrease. But we didn't know moxibustion effects exactly whether is biochemical reaction or thermal reaction on acupuncture point.

Key Word : moxibustion, CV5(Serk-Moon), 3 β -HSD, contraception.

* 원광대학교 한의과대학 경혈학교실

** 세명대학교 한의과대학 침구학교실

접수: 99. 5. 31 채택: 99. 7. 5 연락처: 최영순 T. 0653-850-6448

I. 緒 論

石門(CV 5)은 任脈線上的 臍下 2寸에 位置한 經穴로, 異名은 利機, 精露, 丹田, 命門, 端田이 있고, 穴性은 理氣止痛, 通利水道하며, 鍼灸法은 鍼은 5分 - 8分, 灸는 3壯 - 200壯을 하고, 主治는 生殖器疾患으로 欲斷産, 産後惡露不止, 産後腹痛, 産後瘀血, 崩中帶下, 經閉 등을 治療하며, 泌尿器疾患으로 奔豚, 小便不利, 五淋, 癰閉 등을 治療하고, 局部疾患으로 小腹痛, 腹滿疝積 등과 三焦經의 募穴로써 嘔吐, 吞酸, 大便難, 三焦脹, 泄痢不禁, 水腫 등을 治療하고 있다. 그리고 주의사항으로 “..女子禁 不可刺, 灸中央, 不幸使人絶子”¹⁾, “婦人禁鍼禁灸犯終身絶子”²⁾라고 하여 可妊女性에게 鍼灸施術을 하면 永久不妊을 일으킬 수 있다고 하였다.

3β -hydroxysteroid dehydrogenase/ $\Delta 5$ - $\Delta 4$ isomerase (3β -HSD)는 progesterone, mineralocorticoid, glucocorticoid, androgen 및 estrogen과 같은 모든 종류의 스테로이드 호르몬의 합성에 필수적인 단계인 3β -hydroxy-5-ene 스테로이드를 3-keto-4-ene 스테로이드로의 산화 및 이성체화반응을 촉매하는 효소로서³⁻⁴⁾ 난소, 고환, 부신 및 태반과 같은 전형적인 스테로이드를 합성하는 조직들에 존재한다⁵⁾.

艾灸療法에 대해 李⁶⁾는 “虛者灸之, 使火氣以助元陽, 實者灸之, 瀉實邪隨火氣以發散, 寒者灸之, 使其氣復溫, 熱者灸之, 引鬱熱之氣外發, 火就燥之義”라고하여 寒熱虛實 등의 諸疾患에 灸療法을 응용할수 있다고 제시하였으며, 최근에는 灸療法의 機轉을 究明하려는 研究가 進行되고 있다. 金⁷⁾은 艾葉의 用量에 따라 效能이 달리 나타나고 있음을 보고하였고, 金⁸⁾, 朴⁹⁾, 李¹⁰⁾는 艾灸에 의한 hormone의 변화를 관찰하여 艾灸와 hormone 사이에 相互關聯性을 가지고 있음을 보고하고 있다.

石門穴이 임신에 관여하는 여러 임상실험에서, 可妊女性을 對象으로 鍼灸療法을 시행한 경우 不妊을 誘導하는데 有效했으며¹¹⁾, 避妊目的으로 可妊女性에게 石門穴과 曲骨穴을 鍼灸施術하여 避妊率이 有效하다는 보고¹²⁾가

있고, 宋¹³⁾ 등은 石門穴에 대한 艾灸는 卵巢 Hormone에 영향을 미치고 있음을 보고하였다.

이에 著者는 鍼灸에 의해 永久不妊된다는 石門穴에 艾灸한 후, immunostain, ELISA, western blotting의 protein 분석방법을 통하여 性 Hormone의 생성에 관여하는 3β -hydroxysteroid dehydrogenase/ $\Delta 5$ - $\Delta 4$ isomerase (3β -HSD)의 變化有無를 관찰하여, 다음과 같은 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 動物

실험동물은 체중 180g 內외의 雌性 Sprague Dawley계 白鼠를 高형사료(삼양배합사료 실험동물(쥐)용, 삼양유지사료(주))와 물을 충분히 공급하면서 1600시간 동안 실험실의 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

2. 材料

本 實驗에 사용한 뜸쑥은 圓光大學校 韓醫科大學 附屬 韓方病院에서 사용하고 있는 뜸쑥(精華社)을 사용하였다.

3. 方法

1) 取穴

人體 腹部와 石門(CV 5)部位에 相應하는 部位를 林¹⁴⁾의 方法에 따라 取穴하였다.

2) 艾灸

白鼠 5마리를 한개의 群으로하여 對照群, non-point 1群(NP 1群), non-point 2群(NP 2)群, 石門群(S群)으로 나누어 시행하였으며, 石門穴에 相應하는 部位의 털을 animal clipper로 깎은 후 艾灸하였다. 非經穴點(Non-point)은 白鼠 5마리를 한 개의 群으로하여 아래에서 2, 3번째 乳頭線上 中間點 內側 3mm 점(non point 1군)과 肋骨 最下端點과 股關節을 이은 중간 脛기부위(non point 2군)을 取穴하여 艾灸하였다.

艾炷는 米粒大(9.3mg)로하여 사용하였고, 直接灸法으로 線香을 이용하여 點火하였으며,

自然燒滅되면 계속하여 3壯 艾灸하였다. 艾灸는 每日 同一 時間(午後 7時), 12일간 施行하였다.

3) 조직적출

Rat의 uterus와 ovary를 적출하여 0.1M PBS(Phosphate Buffered Saline)이 들어있는 falcon tube에 이동하고 얼음속에 보관한다. 보관된 적출물을 immunostain용과 ELISA, western blot용으로 분리한다.

4) 實驗方法

4-1. 면역조직화학염색법(immunostain)

10% 포르말린에 고정된 조직을 automatic tissue processor처리과정을 거쳐 파라핀에 포매하였다. 4 μ m로 박절한 조직절편을 슬라이드에 올려 overnight해서 부착시킨 후 xylene과 alcohol 처리과정을 거쳐 파라핀을 제거하고 함수시켰다. 내인성 peroxidase를 제거하기 위하여 3% H₂O₂로 40 분간 처리한후 pepsin을 처리하여 항원을 노출시켰다. 이어서 avidin-biotin blocking kit(Zymed Lab.)를 이용하여 내인성 avidin-biotin을 제거하였으며, 수세를 거쳐 protein blocking reagent(DAKO, LSAB kit)에 1시간동안 처리함으로써 항체의 비특이적 부착을 제거하였다. Antibody dilution buffer(Research Genetics)에 1:500으로 희석한 3 β -HSD항체에 4 $^{\circ}$ C에서 16시간동안 반응시켰으며, 수세를 거쳐 이차항체인 biotinylated anti-rabbit immunoglobulins(DAKO, LSAB kit)로 20분간 반응시켰다. 수세를 거쳐 streptoavidin(DAKO, LSAB kit)에 10분간 반응시킨후 AEC (three-amino-9-ethylcarbazole, DAKO)로 발색시켰으며 hematoxylin으로 대조염색을 시행하였다.

4-2. western blot

조직을 분쇄하고 4 $^{\circ}$ C, 12,000rpm에서 15분간 원심분리하여 상청액을 얻었다. 이를 동량의 2X SDS sample buffer와 섞어 100 $^{\circ}$ C에서 3분간 끓인 후 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide 겔을 사용하여 전기영동을 시행하였다. 이어서 전이완충용액(50mM Tris-base, 380mM glycine, 20% methanol)을 이용하여 40V에서 16시간동안 nitrocellulose

filter membrane(NC)에 전이한후 blocking buffer(6% skim milk)에서 3시간동안 반응시켰다. NC를 tris buffered saline(10mM Tris-HCl, 150mM NaCl pH 7.4, 0.05% Tween-20)에 1:1000으로 희석한 3 β -HSD 항체에 상온에서 1시간동안 반응시킨 후 Tris-HCl buffer(10mM Tris-HCl, 150mM NaCl, 0.05% Tween-20, pH 7.4)에 5분간 5회 수세하였으며 이어서 1:1000 으로 희석한 이차항체(HRP conjugated anti-rabbit IgG, DAKO)에 1시간동안 반응시켰다. 수세를 거쳐 alkaline phosphatase buffer(pH 9.5)에 BCIP(5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate, Boehringer Mannheim, GmbH)와 NBT (nitroblue tetrazolium, Boehringer Mannheim)로 조성된 용액에서 발색시켰다.

4-3. ELISA

(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

조직을 분쇄하고 4 $^{\circ}$ C, 12,000rpm에서 15분간 원심분리하여 상청액을 얻었다. 96-well plate에 coating buffer(ph 9.6)로 희석한 sample을 각 well에 넣고 blank를 설정한다. 4 $^{\circ}$ C에서 overnigt하고 200 μ l 1% skin milk in TBST에 각각 3분씩 3회를 washing하고 그후 200 μ l 1% skin milk in TBST에 1시간동안 water bath에 37 $^{\circ}$ C를 유지한다. primary Ab를 tbst에 1:1000으로 희석하여 100 μ l를 넣어 water bath에 37 $^{\circ}$ C를 유지하여 1시간을 기다린다. 이때 blank는 antibody대신 TBST를 넣어 발색되지 않도록 한다. 200 μ l 1% skin milk in TBST로 각각 3분간 3회씩 washing하고 100 μ l Rabbit IgG-HRP를 TBST에 1:1000으로 희석하여 37 $^{\circ}$ C를 유지하는 water bath에 1시간을 유지하여 primary antibody에 붙을 수 있도록 한다. 다시 200 μ l TBST에 각각 3분간 3회 반복하여 washing한다. citrate B 100 cc와 0.05g OPD, 4 μ l H₂O₂를 혼합한 발색제를 100 μ l를 각각 주입하여 30분간 dark room에 유지한 후, 2N H₂O₂, 50 μ l를 혼합하여 ELISA reader로 490nm에서 흡광도를 측정한다.

4. 統計的 處理

실험결과와 해석방법은 immunostain의 경우, 광학현미경을 사용하여 육안적 해석을 하였다. western blot의 경우, 밴드의 굵기나 색의 선명도에 의하여 해석하였고, ELISA의 경우는 data에 대한 개별분석과 ANOVA의 분산분석방법을 따라 처리하였다.

III. 實驗結果

1. 면역조직화학염색법에 의한 3β -HSD의 분포 확인

3β -HSD의 양상을 확인하기 위하여 immunostain을 해본 결과, ovary에서 對照群의 follicle 주위의 theca membrane에서 3β -HSD의 존재를 확인하였고 granular cell에서 전반적으로 폭넓게 발색됨을 확인하였다. ovary의 stroma에서도 3β -HSD의 antibody와 결합하여 발강게 염색됨을 확인하였다(fig. 1, fig. 2).

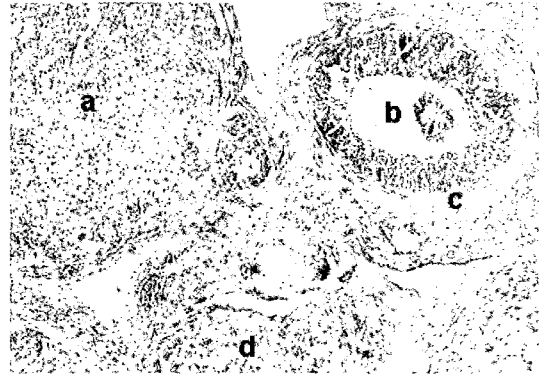


fig. 2. The ovary structure of rat in control group. 3β -HSD is red point. A is the granula cell and B is the follicle. C is the theca membrane. D is the stroma.

non-point 1群의 組織을 immunostain을 해본 후, 對照群에 비해 granular cell에서 다소 진하게 발색되었고, theca membrane에서도 또한 다소 진하게 발색되었다. follicle을 제외한 stroma에서 control군에 비해 역시 다소 진하게 발색되어 전체적으로 진하게 발색되었다(fig. 3, fig. 4)

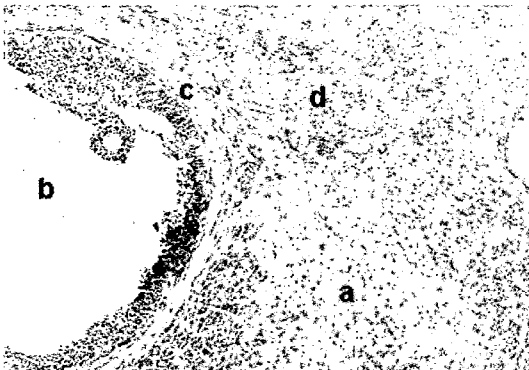


fig. 1. The ovary structure of rat in control group. 3β -HSD is red point. A is the granula cell and B is the follicle. C is the theca membrane. D is the stroma.

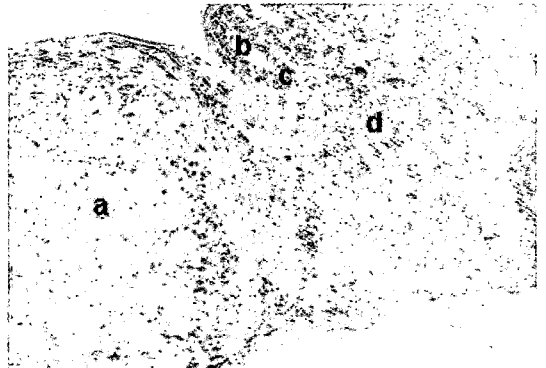


fig 3. The ovary structure of rat in non-point group. 3β -HSD is red point. A is the granula cell and B is the follicle. C is the theca membrane. D is the stroma.

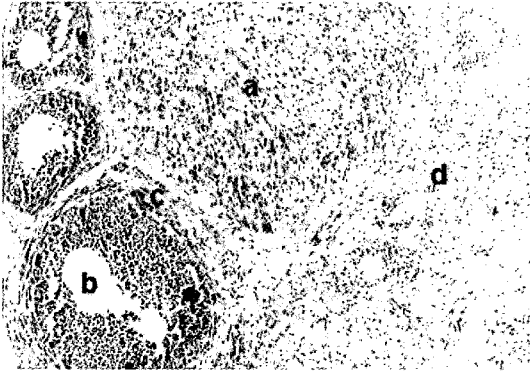


fig. 4. The ovary structure of rat in non-point group. 3β -HSD is red point. A is the granula cell and B is the follicle. C is the theca membrane. D is the stroma.

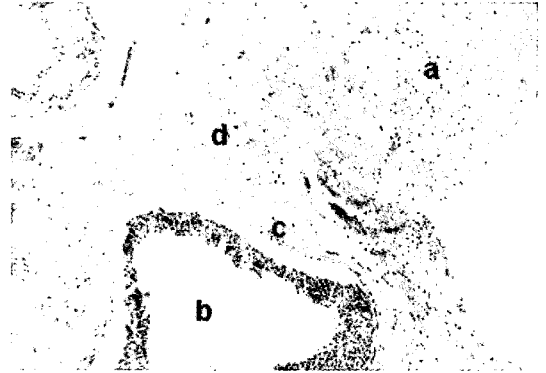


fig. 6. The ovary structure of rat in non-point 2 group. 3β -HSD is red point. A is the granula cell and B is the follicle. C is the theca membrane. D is the stroma.

non-point 2群의 組織을 immunostain을 해 본 후, 對照群에 비해 granular cell은 다소 진하게 발색되었으며, theca membrane에서는 다소 약하게 발색되었다. 또한 stroma에서 발색됨이 약하였으나 유의성은 나타나지 않았다(fig. 5, fig. 6).

3β -HSD는 石門群에서 stroma에서 그 발색됨이 약하였으나 control에 비하여 유의성은 없었다. theca membrane에서는 다소 강하게 염색되었고 granular cell에서도 다소 강하게 염색되었다(fig. 7, fig.8)



fig. 5. The ovary structure of rat in non-point2 group. 3β -HSD is red point. A is the granula cell and B is the follicle. C is the theca membrane. D is the stroma.



fig. 7. The ovary structure of rat in CV5 group. 3β -HSD is red point. A is the granula cell and B is the follicle. C is the theca membrane. D is the stroma.

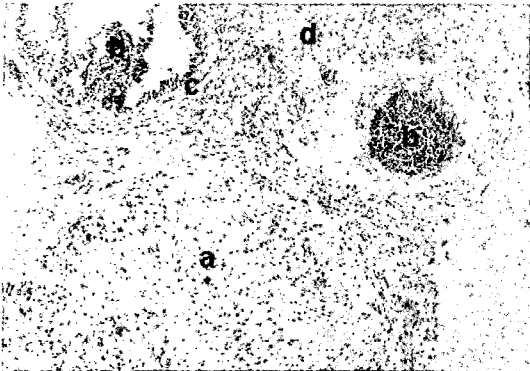


fig. 8. The ovary structure of rat in CV5 group. 3β -HSD is red point. A is the granula cell and B is the follicle. C is the theca membrane. D is the stroma.

2. Western Blot에 의한 3β -HSD의 분포 확인

3β -HSD의 antibody와 특이 반응을 일으키는 protein의 정확한 발현양상을 알아보기 위하여 Western Blot을 해본 결과, 대조군과 NP 1군, NP 2군, S군의 42kda에서 밴드를 확인할 수 있었으며, 대조군에 비하여 NP 1군과 S군에서 밴드의 길이와 굵기가 다소 선명하게 나타났다(fig. 9).

Mark
42kda→
43kda→

con NP1 NP2 S

fig. 9. The Western Blot results of ovary on 3β -HSD. Con is control group. Np 1 is moxibustion Group on non point 1. Np 2 is the moxibustion group on non point 2. S is the moxibustion Group on CV5

3. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay에 의한 3β -HSD의 질량확인

1) ELISA reader(spectra MAX 250, softmax)에 의한 질량검사

3β -HSD의 양적 변화를 조사하기 위하여 실시된 ELISA 검사를 3회 실시하여 평균 분석한 결과는 다음과 같다.

1회 검사에서 각 ovary의 3β -HSD 상대 질량값의 평균분석은 對照群에서 1.5425 ± 0.0417 , NP 1群에서 1.5500 ± 0.0481 , NP 2群에서 1.4390 ± 0.1372 이며, 石門群에서는 1.2140 ± 0.0198 로 분석되어 對照群과 비교하여 0.3285만큼 감소하여 유의성을 나타내었다 ($p < 0.05$, table 1., fig. 10).

2회 검사시 각 ovary의 3β -HSD 상대 질량값의 평균분석은 對照群에서 1.5375 ± 0.0290 , NP 1群에서 1.5385 ± 0.0530 , NP 2群에서 1.4400 ± 0.1329 이며, 石門群에서는 1.2160 ± 0.0297 로 분석되어 對照群과 비교하여 0.3215만큼 감소하여 유의성을 나타내었다 ($p < 0.05$, table 1., fig. 11).

3회 검사시 각 ovary의 3β -HSD 상대 질량값의 평균분석은 對照群에서 1.5190 ± 0.0396 , NP 1群에서 1.5235 ± 0.0460 , NP 2群에서 1.4280 ± 0.1259 이며, 石門群에서는 1.2020 ± 0.0269 로 분석되어 對照群과 비교하여 0.3170만큼 감소하여 유의성을 나타내었다($p < 0.05$, table 1., fig. 12).

Table 1. The first natural quantity analysis of ovary in elisa

	CON	NP 1	NP 2	S
1	1.5426 ± 0.0417	1.5500 ± 0.0481	1.4390 ± 0.1372	$1.2140^* \pm 0.0198$
2	1.5375 ± 0.0290	1.5385 ± 0.0530	1.4400 ± 0.1329	$1.2160^* \pm 0.0297$
3	1.5190 ± 0.0396	1.5235 ± 0.0460	1.4280 ± 0.1259	$1.2020^* \pm 0.0269$

Values are mean \pm standard deviation and measured at 490nm. CON is control group. NP1 is non-point 1 group. NP2 is non-point 2 group. S is moxibustion group on CV5. 1 is the first test in Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. 2 is the second test in Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. 3 is the third test in Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *, is different with control

group significantly(p<0.5).

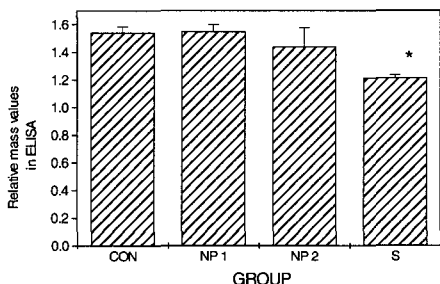


Fig. 10. Relative mass analysis of 3β-HSD in Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (elisa) at first test

Values measured at 490nm. CON is control group. NP1 is non-point 1 group. NP2 is non-point 2 group. S is moxibustion group on CV5. 1 is the first test in ELISA. 2 is the second test in ELISA. 3 is the third test in ELISA.

*, is different with control group significantly (p<0.5).

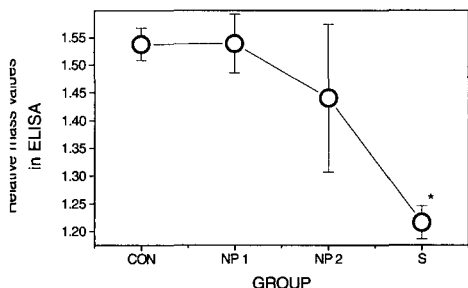


Fig. 11. Relative mass analysis of 3β-HSD in Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (elisa) at first test

Values measured at 490nm. CON is control group. NP1 is non-point 1 group. NP2 is non-point 2 group. S is moxibustion group on CV5. 1 is the first test in ELISA. 2 is the second test in ELISA. 3 is the third test in ELISA.

*, is different with control group significantly (p<0.5).

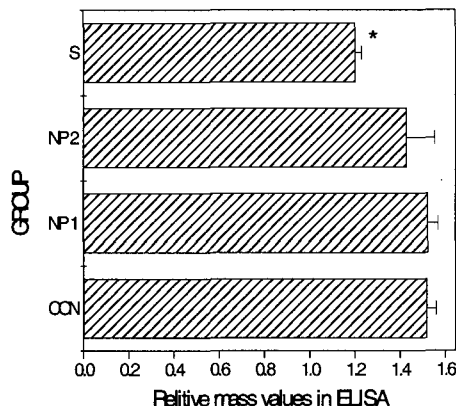


Fig. 12. Relative mass analysis of 3β-HSD in Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (elisa) at first test

Values measured at 490nm. CON is control group. NP1 is non-point 1 group. NP2 is non-point 2 group. S is moxibustion group on CV5. 1 is the first test in ELISA. 2 is the second test in ELISA. 3 is the third test in ELISA.

*, is different with control group significantly (p<0.5).

IV. 考 察

任脈의 “任”은 “妊”의 意味¹⁵⁾로 婦人生養의 根本이 되며, 足三陰經과 交會하여 人身의 陰氣를 總括的으로 調節하는 “陰脈之海”⁷⁾에 해당한다. “素問·骨空論”¹⁶⁾에서는 中極之下에서 起始하여 會陰에서 出한다하여 이 부위를 胞中¹⁷⁾이라고 하고 있어 子宮의 部位가 中極穴에서 會陰穴에 이르는 곳까지를 가리키고 있는데, 西洋의 解剖學的 位置로도 可妊女性의 子宮의 位置와 相應하는 것으로 볼 수 있다. “素問·上古天真論”¹⁶⁾에서 天癸가 至할 때 衝脈이 盛하고 任脈이 通하게 되면 月經이 이뤄져 妊娠을 할 수 있다는 意味를 내놓고 있는데, 이는 任脈이 思春期 때부터 女性의 排卵과 密接하게 關聯을 맺고 있음을 說明하는 것이다. 이러한 점을 통해 볼때 下腹部에 존재하는 任脈의 7個 經穴들은 男女에게 있어서 生殖器系統의 疾患¹⁷⁾에 연관을 맺고 있는 것이다.

石門穴은 臍下 2寸으로 神闕下 2寸, 曲骨穴上 3寸에 位置하고 있고, 그 異名이 絕子, 絕

孕이라 하여 不妊穴로 알려져 있다. 또한 丹田이라 하여 養生家에서 丹田呼吸의 中心을 이루는 重要部位라고 認定하고 있으니¹⁷⁾ 先天과 後天, 現在의 生命과 태어날 미래의 生命을 이어주는 중요한 穴位라고 推定할 수 있다. 해부학적 위치로는 肋下神經의 前皮枝 (ant. cutaneous br. of subcostal n.)와 淺腹壁動脈·靜脈(Superficial epigastric a & v.), 下腹壁動脈·靜脈(inf. epigastric a & v.)¹⁷⁾이 통과하는 부위에 존재하며, 欲斷產의 産兒制限을 목적으로 할 때 활용할 뿐 아니라 經斷久忽大崩下, 經閉, 難産, 逆産, 産後瘀血, 産後惡露不止, 産後腹痛 等に 응용하고 있으며, 특히 妊娠末期나 産後에 發病된 婦人科 疾患에 많이 응용하고 있음을 살펴볼 수 있다. 또한 臨床에 관련된 文獻들을 살펴보다도 石門穴下 3分에 絶孕穴이라는 經外奇穴의 존재와 陰交穴에 뜸을 떠서 不妊을 생기게 한 경우¹⁶⁾, 婦人病疾患에 關元穴에 刺鍼하려다 잘못하여 石門穴에 刺鍼하게 됨으로써 不妊을 유발시킬수 있다고 注意를 준 내용들도 있으니, 이는 石門穴 주위가 妊娠에 매우 민감한 部位임을 설명하고 있는 것이다. 그러나 石門穴에 대한 鍼灸治療가 모두 不妊을 유도하지 않는다는 의견도 제시되고 있다. 鍼灸說約에서 著者は “不妊을 원하는 환자에게 關元穴에 2 - 3寸 刺鍼하고, 石門穴에 뜸 27壯을 했는데 결국 불임이 되지 않았다”라고 설명하고 있어 일반적인 石門穴의 避妊誘導作用에 예외가 있음을 볼수 있다. 이는 조작방법에 따라 不妊誘導나 다른 疾患治療쪽으로 효과가 달리 나타날 수 있음을 설명하는 것이다. 石門穴에 대한 一般의인 鍼灸施術法을 살펴보면 5分 - 8分정도로 淺刺하고 있으며, 灸는 3壯 - 200壯으로 養生穴로서는 비교적 적은 범위에서 활용하고 있어, 不妊誘發을 피한 鍼灸施術法으로 사료된다. 반면 임상에서 避妊을 목적으로 石門穴에 刺鍼할 경우에는 經期中이나 外感時보다는 月經期가 끝난 1 - 2日째가 가장 刺鍼하기 좋은 時機로 刺鍼은 2寸의 깊이로 深刺¹¹⁾해야한다고 하였는데, 이는 여성의 月經이 끝난 뒤 增殖期로부터 分泌期

에 이르는 기간을 말한 것으로, 특히 增殖期에서 分泌期에는 女性的 卵巢와 子宮이 排卵을 準備하고 排卵하는 期間으로, 石門穴의 鍼灸施術을 통한 避妊法은 排卵에 關聯된 機能을 抑制하는 것이 아닌가 推論할수 있다.

子宮은 解剖的으로 骨盤內에 존재하는데, AkaiShi 等¹⁸⁾은 자궁에서 PVN(Hypothamic paraventricular nucleus)까지 specific sensory affernts 존재를 발견하였으며, Berkley 等¹⁹⁾은 쥐에서 기계적, 화학적 자극에 반응하는 求心性 神經纖維가 하복강신경 및 골반신경속에서 존재하고, 쥐에 자궁체부 및 자궁경부의 감각신경이 주로 L2 - L3와 L5 - S1의 척수신경후근신경절로 이어져 있다고 보고²⁰⁾하고 있으며, 정²¹⁾은 쥐의 감각신경은 주로 경부와 체부에 분포하였고(98.5%), 자궁체부에 분포하는 감각신경은 주로 하복강신경을 따라 T12 - L4 척수신경 후근신경절로 전도되는 것(73%)과 골반신경을 따라 L5 - S1 척수신경 후근신경절로 전도되는 것(27%)이 있어 자궁의 감각은 주로 하복강신경을 따라 전도된다고 보고하고 있다. 또한 흰쥐 골반신경의 구심성 신경은 子宮의 疼痛에 관한 정보²⁰⁾ 및 子宮의 恒常性 維持에 필요한 정보²²⁾에 관여하여 假性妊娠²³⁾ 및 正常妊娠과 分娩²⁴⁾에 중요한 역할을 한다고 하며, 자궁에 투여한 통각유발 물질에 반응을 보이는 신경섬유는 골반신경과 S1 및 S2 후근을 통해 중추로 연결되며, 이들은 주로 A δ 및 C 섬유로 되어 있는 것으로 추정하며²⁵⁾, 이러한 골반내 감각신경은 주로 부교감신경섬유 속에 섞여 있다고 보고²⁶⁻²⁷⁾하고 있다.

排卵은 卵巢의 卵胞가 매달 成熟하면서 破裂되어 成熟된 卵子를 排出하는 現象을 말하는데, 排卵은 視床下部 - 腦下垂體前葉 - 卵巢가 상호조절하는 축을 이루면서 나타나는 복잡한 生理現象의 결과이다. 이러한 腦下垂體의 性腺刺戟 Hormone(FSH, LH)의 分泌는 일차적으로 視床下部에서 분비되는 性腺刺戟 Hormone Realising Hormone (FSH · RH, LH · RH)과 性 Steroid Hormone(Estradiol, Progestosterone), 특히 Estradiol의 feedback

에 의해 조절되고 있다²⁸⁾.

3β-hydroxysteroid dehydrogenase(3β-HSD)는 pregnenolone을 progesterone으로, 17-hydroxypregnenolone을 17-hydroxy-progesterone으로, dehydroepiandrosterone을 4-androstenedione으로 그리고 5-androstenene-3β, 17β-diol을 testosterone으로 전환하며 각각의 substrate는 조직에 따라 de novo 또는 circulating precursor로부터 이용한다²⁹⁻³⁰⁾.

쥐에는 4종류의 3β-HSD isoform이 있는 것으로 보고되었는데³¹⁾(Mason, 1993), type I은 부신과 생식샘, II와 III은 콩팥과 간 그리고 IV는 콩팥에 분포한다³²⁾. 또한 사람에서도 type I은 태반에서 그리고 type II는 생식샘과 부신에 존재함으로써³³⁾ 조직분포 특이성을 보인다.

3β-HSD의 대사과정은 주로 neurosteroid의 연구와 더불어 중추신경계통에서 이루어져 왔으며 뇌와 척수의 섬유 별아교세포와 희소돌기아교세포 및 궁둥신경의 신경집세포는 자체내에서 P450 side chain cleavage enzyme에 의해 콜레스테롤로부터 생성된 pregnenolone으로부터 progesterone을 합성한다³⁴⁻³⁷⁾. 또한 3β-HSD가 존재하는 것으로 알려진 피부, 전립선, 정낭, 자궁, 젖샘조직 등은 adrenal precursor로부터 성호르몬을 합성한다. 이 외에 유방암조직에서도 3β-HSD가 검출됨으로써 3β-HSD의 대사에 관련된 steroid level과의 임상적 측면에서의 관련 가능성을 시사해 주고 있다.

不妊症은 크게 原發性 不妊과 續發性 不妊으로 구분하고 있으며, 그 比率은 약 7 : 3으로 나타나고 있으며, 年齡에 있어서 26歲에서 35歲 사이가 70%로 대부분을 차지하고 있다. 男性에게서의 不妊의 類型은 無精子症, 精子減少症, 精子運動性 低下症 등이 있으며, 女性에게서의 類型은 排卵因子, 卵管因子, 子宮內膜因子, 腹膜因子 등으로 나타나고 있다. 이 중 排卵障礙에 의한 不妊의 頻度는 23.0%로 가장 많이 차지하고 있으며, 한국(1981.1-1987.7)에서 排卵障礙를 통한 不妊症의 임상적 고찰결과, 視床下部 - 腦下垂體 機

能異常이 80.3%, 視床下部 - 腦下垂體不全이 11.1%, 卵巢不全이 8.6%를 차지하고 있었다. 이는 以上에서 언급한 性 Hormone의 作用異常이 不妊에 커다란 要件임을 의미한다고 볼 수 있다.

韓醫學的으로 妊娠은 男子의 精(精子)과 女子의 血(卵子)이 相互結合하여 胎(受精卵)를 이루는 것으로 妊娠이 되기 위해서는 女子의 調經과 天癸가 이루어져야 하고, 男子는 補腎爲要하여 壯精이 중요하고 聚精之道, 種子之道 등의 條件이 필요하며, 특히 男女의 生殖機能을 主管하는 臟器인 腎이 妊娠을 主管하게 된다고 하였다. 不妊의 原因은 腎虛精虧 · 衝任失養, 勞思傷脾 · 氣血不足 · 胞脈失養, 肝鬱氣滯 · 瘀血阻胞, 脾失健運 · 痰濕阻胞, 寒襲胞宮 · 寒凝胞阻로 나누고 있으며, 治法에 있어서도 溫腎扶陽 · 調補衝任, 養陰清熱 · 填精益腎, 疏肝理氣 · 活血祛瘀, 補氣養血 · 健脾益腎, 燥濕化痰 · 行氣健脾, 溫經散寒 · 活血調經의 方法으로 治療를 한다고 하였다. 그리하여 임상적으로 溫鍼이나 灸를 통해 胞宮을 補하여 營衛가 調和시키려는 방법이 나오게 되었다.

經絡學的으로 石門穴은 任脈線상에 존재하여 직접적으로 胞와 연결되었을 뿐 아니라, 手少陽三焦經의 募穴으로써 下焦에 해당하는 부위에 존재하여 生殖器系統과 密接하게 關聯을 맺고 있다. 三焦經에 관한 실험에서도 三焦經의 자극후 4분간은 三焦經上과 全身에서 性 Hormone의 濃度가 上升하였고, 4분후에는 三焦經上에서만 Hormone이 남아있었다고 하였다. 이러한 점과 관련지어 三焦經의 分布路線이 腹部의 卵巢와 辜丸 등에도 분포¹⁷⁾하고 있으며 腹部上에 존재하는 任脈의 石門穴은 三焦經의 募穴¹⁷⁾임을 주지하게 된다.

근래 鍼灸刺戟을 통한 妊娠 및 性 Hormone과의 關聯性을 실험한 보고를 살펴보면, 趙^{11,14)}는 月經後 1-2일째 되는 날에 石門穴에 자침하여 避妊效果를 얻었으며, 石門 · 曲骨穴에 대한 鍼과 灸療法이 可妊女性 105例에서 95.2%의 避妊效果를 얻었다는 보고가 있고¹²⁾, 丁³⁸⁾은 任脈의 中極穴과 經外奇穴인

子宮穴을 爲主로하였으며, 舒肝理氣燥濕을 위해 三陰交와 太衝穴을 加하여 70例의 患者를 治療한 結果 57例에서 不妊症이 治療되었다고 하며, Motohash 等³⁹⁾은 경험적으로 女性의 生殖器官과 관련있는 four loci에 대한 鍼刺戟後, progesterone과 estradiol의 濃度는 卵胞期에는 上升하였으나, 黃體期에는 下降하였다고 보고하고 있다. 또한, Mo 等⁴⁰⁾은 排卵機能障礙를 보이고 있는 患者 34例에서 肝俞, 腎俞, 關元, 中極, 三陰交를 鍼灸施術한 結果 35.29%에서 治療成果(有效率 : 82.35%)를 얻었으며, LH, FSH, Progesterone, Estradiol 濃度가 상승하였다고 보고하고 있으며, Omura⁵⁴³¹⁾는 手少陽三焦經上 經穴에 대한 刺戟은 男性에게서는 testosterone, 女性에게서는 estradiol이 上升하였다고 보고하고 있다.

이에 본 연구는 石門에 艾灸한 후, immunostain과 immuoblot, eliza를 실시하여 3β -HCD의 性상변화를 조사하였다.

immunostein을 실시한 후, 對照群에서는 follicle 주위의 theca membrane에서 3β -HSD의 분포를 확인하였고, granular cell에서 전반적으로 폭넓게 발색됨을 확인하였다. ovary의 stroma에서도 3β -HSD의 antibody와 결합하여 발광계 염색되었다(fig. 1, fig. 2).

Non-point 1群에서는 granular cell에서 다소 진하게 발색되었고, theca membrane에서 또한 다소 진하게 발색되었다. follicle을 제외한 stroma에서 control群에 비해 역시 다소 진하게 발색되었으나 유의성은 나타나지 않았다(fig. 3, fig. 4).

Non-point 2群의 granular cell은 control群에 비하여 다소 진하게 발색되었으며, theca membrane에서는 다소 약하게 발색되었다. 또한 stroma에서 발색됨이 약하였으나 유의성은 나타나지 않았다(fig. 5, fig. 6).

3β -HSD는 石門群에서 stroma에서 그 발색됨이 약하였으나 control에 비하여 유의성은 없었다. theca membrane에서는 다소 강하게 염색되었고 granular cell에서도 다소 강하게 염색되었다(fig. 7, fig. 8).

3β -HSD의 antibody와 특이 반응을 일으

키는 protain의 정확한 발현양상을 알아보기 위하여 Western Blot을 해본 결과, 對照群과 NP 1群, NP 2群, S群의 42kda에서 밴드를 확인할 수 있었으며, 對照群에 비하여 NP 1群과 S群에서 밴드의 길이와 굵기가 다소 선명하게 나타났으나 유의성은 없었다.

3번째 실험인 ELISA검사에서는 1회째, 각 ovary의 3β -HSD 상대질량값의 평균분석은 對照群에서 1.5425 ± 0.0417 , NP 1群에서 1.5500 ± 0.0481 , NP 2群에서 1.4390 ± 0.1372 이며, 石門群에서는 1.2140 ± 0.0198 로 분석되어 對照群과 비교하여 0.3285만큼 감소하여 유의성을 나타내었다($p < 0.05$). 2회째, 각 ovary의 3β -HSD 상대질량값의 평균분석은 對照群에서 1.5375 ± 0.0290 , NP 1群에서 1.5385 ± 0.0530 , NP 2群에서 1.4400 ± 0.1329 이며, 石門群에서는 1.2160 ± 0.0297 로 분석되어 對照群과 비교하여 0.3215만큼 감소하여 유의성을 나타내었다($p < 0.05$). 3회째, 각 ovary의 3β -HSD 상대질량값의 평균분석은 對照群에서 1.5190 ± 0.0396 , NP 1群에서 1.5235 ± 0.0460 , NP 2群에서 1.4280 ± 0.1259 이며, 石門群에서는 1.2020 ± 0.0269 로 분석되어 對照群과 비교하여 0.3170만큼 감소하여 유의성을 나타내었다($p < 0.05$).

위의 실험에서와 같이 3β -HCD의 질량변화는 石門群이 對照群에 비하여 적었으며 이로 인해 石門에 대한 艾灸의 효과가 性호르몬의 활동을 減少시킬 수 있음을 알 수 있었다. 아울러 石門에 대한 艾灸의 효과를 증진시키는 다양한 방법의 연구가 진행됨이 필요하다고 思料된다.

V. 結 論

石門에 艾灸한 후, 性호르몬의 전구물질인 3β -HSD의 발현양상을 알아보는 본 실험을 고찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Ovary를 적출하여 면역조직염색화학법을 실시한 결과 對照群, NP 1群, NP 2群, 石門群에서 3β -HSD의 발현을 확인하였으며,

石門群에서의 발현양상이 對照群에 비하여 theca membrane과 granular cell에서 강하게 염색되었고, stroma에서 약하게 염색되었다.

2. Ovary를 적출하여 Western Blot을 실시한 결과, 對照群, NP 1群, NP 2群, 石門群에서 3β-HSD의 밴드를 42kda부위에서 확인하였으며, 對照群에 비하여 NP 1群과 石門群에서 밴드의 길이와 굵기가 다소 선명하게 나타났다으나 유의성은 없었다.

3. Ovary를 적출하여 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay를 실시하고 질량분석을 한 결과, 對照群보다 石門群의 3β-HSD 질량이 유의성있게 감소하였다.

以上으로 石門에 艾灸하여 3β-HSD의 發顯樣相을 알아보는 본 실험을 통해 실험군인 백서에서 3β-HSD의 질량이 감소함으로 妊娠에 영향을 미칠 수 있음을 확인하였으며, 앞으로 이에 대한 다양한 각도의 실험이 진행되어야 한다고 思料된다.

參考文獻

1. 皇甫謐. 針灸甲乙經校釋 上·下. 中國, 人民衛生出版社, 上 405, 下 1075-6, 1090, 1098, 1212, 1216, 1329, 1355, 1473-4. 1979.
2. 高武. 針灸聚英, 서울, 동남출판사, 126-7. 1985.
3. Dupont E, Labrie F, Luu-The V, Pelletier G. Immuno- cytochemical localization of 3β-hydroxysteroid dehydrogenase/Δ5-Δ4-isomerase in human ovary. J. Clinical Endocrinol metab. 74(5); 994-8. 1992.
4. Jumeau C, Dupont E, Luu-The V, Labrie F, Pelletier G. Ontogenesis of 3β-hydroxysteroid dehydrogenase/Δ5-Δ4-isomerase in the rat ovary as studied by immunocytochemistry and in situ hybridization. Biol Reprod. 48; 26-234. 1993.
5. Dupont E, Zhao HF, Rheume E, Simard J, Luu-The V, Labrie F, Pelletier G. Localization of 3β-hydroxysteroid dehydrogenase/Δ5-Δ4-isomerase in rat gonads

- and adrenal glands by immuno- cytochemistry and in situ hybridization. Endocrinol 127; 1394-403. 1990.
6. 李榭. 國譯偏註醫學入門, 崇文社(重刊), 884. 1974.
7. 金庚植. 艾灸의 用量이 血清 中 酵素活性에 미치는 影響. 東洋醫學, 6; 20-6. 1980
8. 金庚植 : 艾灸가 家兔腎臟機能에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院. 韓醫學科 學位論文集 6; 90-116. 1985.
9. 朴수용. 足三里,筋縮穴 艾灸가 家兔血漿內 renin angiotensin converting enzyme 活性度에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 學位論文集. 7; 17. 1985.
10. 이준무. 艾灸가 實驗의 高血壓 白鼠의 血壓, 血漿 renin 活性度 및 catecholamine 濃도에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 1986.
11. 趙柯. 鍼刺石門穴節制生育 32例, 中國, 中國鍼灸, 1; 20. 1991.
12. 高等교육도서출판사. 동의과학연구논문집(2) 임상편. 여강출판사, 380-1. 1993.
13. 송문영, 김재효, 손인철. 石門, 中極穴 艾灸가 雌性 白鼠의 性 Hormon에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌, 13(2); 226-40. 1996.
14. 林鍾國. 針灸治療學. 서울, 集文堂, 489-92. 1986.
15. 滑壽. 十四經發揮, 中國, 旋風出版社, 72. 1980.
16. 楊維傑. 黃帝內經譯解. 서울, 成輔社, 4-6, 105. 1980.
17. 全國鍼灸經穴學教室編. 鍼灸學 上·下. 韓國, 集文堂, 上 113, 459-66, 715-28. 1994.
18. Akaishi T, Robbins A, Sakuma Y, Sato Y.. Neural inputs from the uterus to the paraventricular manocellular neurons in the rat. Neuroscience Letters. 84(1); 57-62. 1988 Jan 11.
19. Berkley,K.J., Robbins,A. and Sato,Y.. Ganglionic origin of sensory fibers supplying the uterus in the rat. In: XII international anatomical congress (abstracts). ed. Book production consultants, London. 51. 1985.
20. Berkley,K.J., Robbins,A. and Sato,Y.. Uterine afferent fibers in the rat. In : fine

- afferent nerve fibers and pain. ed.Schmidt,R.F., Schaible,H.G. and Vahle-hinz,C., VCH Verlage gesellschaft, Weinheim. 127. 1984.
21. 정환식. 흰쥐 자궁의 감각신경의 분포상태와 전도경로에 관한 연구. 고려대학원 학위논문. 1988.
 22. Ruch,T.. Pathophysiology of pain. In: Medical Physiology and biophysics. 18th ed., ed. Ruth, T. and Fulton, J.F., Saunders, Philadelphia. 350. 1960.
 23. Kollar,E.J.. Reproduction in the female rat after pelvic neurectomy. Anat. Rec. 115; 641. 1953.
 24. Carson,R.R. and de Feo,V.J.. Role of the pelvic nerve vs. theabdominal sympathetic nerves in the reproductive function of the female rat. Endocrinology. 77; 1014. 1965.
 25. Han, E.J., Rha, J.Y. and Hong, S.K.. Effects of serotonin on the receptors of uterine nociceptors to algesic substances. Kor.U.M.J. 25(Suppl); 18. 1988.
 26. 정운영, 서영식. 흰쥐 골반부교감신경 전절 축삭,신경절세포 및 후절축삭의 수량적 관계. 최신의학, 29; 110. 1986.
 27. Langworthy,O.R.. Innervation of pelvic organs of the rat. Invest. Urol. 2; 491. 1965.
 28. 조주호. 산과내분비학. 서울, 수문사, 19-44. 1992.
 29. Leadhead C, Lobo RA, Kletzkly DA. The activity of 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase /delta 5-delta 4 isomerase in human follicular tissue. Am J Obstet Gynecol, 145; 491-5. 1983.
 30. Lipsett MB. Steroid hormones. In: Yen SSC, Jaffe RB(eds), Reproductive Endocrinol. Philadelphia, Saunders, 140-5. 1986.
 31. Mason JI. The 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase gene family of enzymes. Trends Endocrinol Metab, 4; 199-203. 1993.
 32. Simard J, Rheame E, Mebarki F, Sanchez R, New MI, Morel Y, Labrie F.. Molecular basis of human 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase deficiency. J. Steroid Biochem Mol Biol, 53; 127-38. 1995.
 33. Russel AJ, Mc Cartin S, Corcao G, Burrige SM, Mc Bride MW, Mc Nicol AM, Hawes CS, Mason JI, Sutcliffe RG. Variation in the expression of human 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase. Endo Res. 21; 485-94. 1995.
 34. Le Goascogne C, Robel P, Gouezou M, Sananes N, Baulieu EE, Waterman M.. Neurosteroids. Cytochrome P450scc in rat brain. Science, 237; 1212-5. 1987.
 35. Jung-Testas I. Progesterone synthesis and myelin formation by Schwann cells. Science, 268; 1500-3. 1995.
 36. Morfin R, Young J, Corpechot C, Egestad B, Sjoval J, Baulieu EE : Neurosteroids Pregnenolone in human sciatic nerves. Proc Natl Acad sci USA, 89; 6790-3. 1992.
 37. Mellon SH. Neurosteroids. Biochemistry modes of action and clinical relevance. J Clin Endocrinol Metab, 78; 1003-8. 1994.
 38. 丁桂榮. 鍼刺治療婦女不孕症70例. 中國, 中國鍼灸, 1; 50-1. 1991
 39. Aso T. Motohash T. Murata M. Nishimura T. Kakizaki K.. The influence of acupuncture stimulation on plasma levels of LH, FSH, progesterone and estradiol in normally ovulating women. American J. of Chinese Medicine, Garden City, New York. winter, 4(4); 391-401. 1976.
 40. Mo X. Li D. Pu Y. Xi G. Le X. Fu Z.. Clinical studies on the mechanism for acupuncture stimulation of ovulation. J. of Traditional Chinese Medicine, June, 13(2); 115-9. 1993.