

원 저

榮穴刺鍼이 發熱 흰쥐의 체온하강과 중추성 면역에 미치는 영향

박승미, 이혜정¹⁾, 신형철²⁾, 김혜정³⁾, 임사비나

경희대학교 한의과대학 경혈학교실, 경희대학교 동서의학대학원 침구경락학교실¹⁾,
한림대학교 의과대학 생리학교실²⁾, 경희대학교 한의과대학 안이비인후과외과교실³⁾

A Study on Acupuncture of Spring-point(형혈); Effect on Body Temperature and Central Immune System

Seung-Mi Park, Hye-Jung Lee¹⁾, Hyung-Cheul Shin²⁾, Hye-Jung Kim³⁾, Sabina Lim

Department of Meridian and Acupoint, College of Oriental Medicine, Kyunghee University,
Department of Acupuncture and Meridianology, Graduate School of East-West Medical Science, Kyunghee University¹⁾,
Department of Physiology, College of Medicine, Hallym University²⁾,
Department of Ophthal-Otorhinolaryngology and Dermatology, College of Oriental Medicine, Kyunghee University³⁾

Objective : There are many reports that acupuncture has thermoregulatory effects on human and animals. To investigate the effect and mechanism of antipyretic action of acupuncture, we observed the body temperature and cytokine expressions in the hypothalamus of rats.

Methods : Lipopolysaccharide (LPS, i.p., 2.5mg/kg) was injected to conscious rats (Sprague-Dawley, male, n=41) to cause hyperthermia and simple needling (stainless steel, 0.25 mm o.d., 5 mm insertion for 10 sec with no manipulation) was performed bilaterally with the measurement of rectal temperature. Next, we sacrificed rats to remove brain and determined the level of mRNA for interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-2 (IL-2) and interferon- γ (IFN- γ) in the hypothalamus by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR).

Results : Needling on forepaw (acupoint HT8) and needling on hindpaw (acupoint BL66 and acupoint LR2) significantly inhibited LPS-induced fever of rats (P<0.01, 10 min after treatment respectively), but same treatment on proximal tail (non-acupoint) did not cause any change on fever. The levels of IL-6 and IL-1 β mRNA in the hypothalamus was significantly enhanced by LPS-injection, while the level of IL-6 and IL-1 β mRNA was markedly reduced after treatment on BL66 (P<0.01). Treatment on forepaw reduced it slightly, but not significantly. Equivalent stimulation on proximal tail did not cause any changes.

Conclusions : Our results indicate that acupuncture stimulation on various body parts has differential thermoregulatory effects on LPS-induced fever of rats with site-specificity. And, we suggest that its antipyretic action might be accompanied with the suppression of hypothalamic production of pro-inflammatory cytokine of immune system, IL-6 and IL-1 β . (*J Korean Oriental Med 2001;22(2):109-119*)

Key Words: Acupuncture, Thermoregulation, Hypothalamus, Cytokine

· 접수 : 2001년 4월 28일 · 채택 : 5월 23일
· 교신저자 : 임사비나, 서울시 동대문구 회기동 1번지 경희대
학교 한의과대학 경혈학교실
(Tel. 02-961-0338, Fax. 02-961-7831, E-mail:
lims@khu.ac.kr)
· 본 연구는 1999년도 보건복지부 한방치료기술연구개발사업
의 지원에 수행되었음.

서 론

經穴은 한의학에서 침구치료의 기준으로 삼고 있
는 인체 표면상의 자극점으로서 인체의 특정한 經絡

상에 위치하며 인체내부 장기의 상태를 반영하는 診斷點으로 鍼, 灸, 附缸 등의 일정한 자극을 통해 내장의 기능을 조절하는 治療點으로 사용된다¹⁾.

그 중 五輸穴은 特定穴인 原穴, 絡穴, 郄穴, 腹募穴, 背俞穴과 더불어 임상에서 활용성이 높고 효과가 좋으며 주로 膝關節以下에 있어 취혈 및 사용하기에 편리한 장점을 가지고 있다²⁾. 오수혈은 井, 榮, 輸, 經, 合穴로 이루어져 있으며 이들은 靈樞·順氣一日分爲四時篇³⁾에 “病在臟者 取之井, 病變于色者 取之榮, ……取之合.” 이라하고 難經·68難⁴⁾에 “井主心下滿, 榮主身熱, ……合主逆氣而泄.” 이라 하여 각각 主治上 重點이 있음을 설명하고 있다. 침구임상에서 이러한 오수혈의 특수치료 작용은 중요한 의미를 지니는데 “榮主身熱”에 근거하여 火邪로 인한 병변에 응용하면 장부의 熱邪로 인한 병변을 치료하는 작용을 발휘한다.

한의학에서는 素問·上古天真論⁵⁾에 “眞氣從之, 精神內守, 病安從來.” 靈樞·百病始生篇⁶⁾에 “風雨寒熱, 不得虛, 邪不能獨傷人.” 素問·刺法論⁷⁾에 “正氣存內, 邪不可干.” 素問·評熱病論⁸⁾에 “邪氣所湊, 其氣必虛.” 라 하여 질병의 발생 및 발전이 인체의 正氣와 邪氣의 抗爭 및 消長進退의 과정으로 인식하였으며, 특히 정기는 질병 발생의 내적 근거가 되어 인체의 정기가 왕성하면 사기가 쉽게 침범하지 못하고 정기가 허약할 때 사기가 그 틈을 타서 침범하여 질병이 발생하게 되므로 정기를 보하고 사기를 제거하는 扶正祛邪法을 치료원칙으로 삼았으며 이는 서양의 免疫개념과 상통된다⁹⁾. 靈樞·刺節眞邪篇³⁾에 “用鍼之類 在於調氣”, 素問·寶命全形論⁵⁾에 “凡刺之眞, 必先治神.”의 이론에 근거하여 調氣治神의 과정을 통해 사기가 盛한 實證은 瀉하고 정기가 虛한 虛證은 補하는 補虛瀉實⁷⁾로 생체의 각 기관 조직의 정기를 강화시키고 외부에 대한 면역기능을 증강시켜 항상성을 유지시킨다^{6,8,9)}.

이를 바탕으로 최근 침구자극에 의한 체온하강과 면역기능의 변화에 대한 연구들이 많이 진행되고 있다. 中腕¹⁰⁻¹²⁾, 足三里¹⁰⁻¹²⁾, 血海¹³⁾, 脾輸¹⁴⁾, 三陰交¹⁴⁾, 關元¹⁵⁾, 腎俞¹⁵⁾, 曲池¹⁶⁾, 氣海¹⁷⁾ 등의 穴들이 單純刺鍼^{16,18)}, 水

鍼^{10,11)}, 電鍼刺戟¹³⁾, 溫鍼^{17,19)} 등의 자극방법으로 이용되어 면역기능에 많은 영향을 미친다고 밝혀졌다. 曲池, 商陽, 合谷들이 체온하강에 영향을 준다고 보고된 바 있으나²⁰⁾, 침구임상에서 보편적으로 활용되고 있는 榮穴의 체온조절 기능에 대한 실험은 시도된 바 없으며, 만약 이에 대한 실험적 데이터를 마련한다면 침구임상의 과학적 근거를 제공한다는 의미를 갖게 될 것으로 생각된다.

이에 본 저자는 오수혈 중 형혈의 “主身熱” 하는 주치를 이용하여 형혈 중 通谷, 少府, 行間에 자침하여 발열이 유발된 흰쥐의 체온하강에 미치는 영향과 체온조절 중추인 시상하부에서 일어난 면역학적 변화를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

실험 방법

1. 실험재료

1) 동물

본 실험에 사용한 흰쥐는 Sprague-Dawley계로 생후 5주령 (체중 250±30g, n=35)의 수컷 (실험동물, 한국)을 구입하여 온도 23±3℃, 상대습도 50±10%의 환경을 유지하면서 고형사료 (삼양사료, 한국)와 물을 공급하였으며, 1주일간 실험실환경에 적응시킨 후 사용하였다.

2) 재료

발열을 유발시키기 위해 LPS (lipopolysaccharide from *Salmonella typhosa*; Sigma, USA)를 사용하였다.

3) 침

침은 호침 (스테인리스강, 직경 0.25mm; 동방침구, 한국)을 사용하였다.

2. 방법

1) 실험군의 구성

실험군은 정상군, 대조군, 通谷침치료군(통곡군), 少府침치료군(소부군), 行間침치료군(행간군), 임의침치료군(임의군)으로 나누었다.

2) LPS 투여

Lipopolysaccharide (LPS)를 2.5 mg/Kg의 농도로 saline에 희석시켜 1.0 ml 주사기 (동신의료기, 한국)를 사용하여 동물의 복강에 투여하였다. LPS 투여 후 동물의 체온이 상승하여 20.5 시간 후 정도에 고열이 계속 유지되는 시점을 확인하였다.

3) 침치료

LPS 투여로 고열을 유발시킨 후 해당부위에 침자극을 10초간 가하였다. 통곡군, 소부군, 행간군은 각각 的谷(BL66), 少府(HT8), 行間(LR2)을 인체에 상응하는 부위에 양쪽 모두 자침하였고, 임의군은 的의 미추와 둔부사이에서 임의혈을 택하여 좌우로 자침하였다. 대조군은 LPS 투여 후 침치료를 하지 않았고, 정상군은 LPS 투여와 침치료를 모두 하지 않았다.

4) 체온 측정

동물의 체온 측정은 체온계(Digital Thermometer TD-300; 芝浦電子, Japan)를 이용하여 직장체온을 측정하였다. 모든 실험군은 실험에 들어가기 전에 정상 온도를 측정하였고 자침 직전에 측정한 후 자침 직후부터 10분 간격으로 4회 측정하였다.

5) RT-PCR

(1) RNA추출

자침후 30분에 체온측정이 끝난 후 동물의 시상하부를 적출하여 즉시 1ml의 TRIzol reagent (GIBCO)에 담귀 homogenization하였다. ice상에서 5분간 방치한 후 0.2ml Chloroform을 첨가하여 15초간 세계 혼든 후 2분간 방치한 다음 4℃에서 12000rpm으로 15분간 원심분리하였다. 이 상층액을 분리하여 0.5ml isopropyl alcohol을 첨가하여 10분간 방치한 후 4℃에서 12000rpm으로 15분간 원심분리하였다. 상층액을 버리고 차가운 75% ethanol 1ml을 첨가하여 가볍게 혼합한 후 4℃에서 7500rpm으로 5분간 원심분리하였다. 상층액을 버리고 실온건조 후 DEPC-DDW 용액 40μl에 용해시킨 다음 spectrophotometer로 260nm에서 정량하고 -70℃에서 보관하여 실험에 사용하였다.

(2) cDNA 합성

역전사 반응은 준비된 total RNA 3μg에 Oligo(dt) 1

μl를 넣어 DEPC-DDW로 12μl까지 채운 후 70℃에서 10분간 반응하여 재빨리 얼음 위로 옮긴 다음 5 × first strand buffer 4μl, 0.1M DTT 2μl, 10mM dNTP 1μl를 혼합하여 42℃에서 2분간 반응 후 superscript II (Promega) 1μl를 첨가하여 가볍게 혼합하고 42℃에서 50분, 70℃에서 15분간 반응하여 합성하였다.

(3) cDNA의 PCR 증폭

중합 연쇄 반응(polymerase chain reaction : PCR)은 PCR자동화기계(Corebio system 96 plus, Germany)에서 template로 cDNA 2μl, Taq polymerase (Promega) 2.5unit, 10mM dNTP 0.8μl, sense primer 20pmol 1μl, antisense primer 20pmol 1μl, 10×buffer 5μl 및 탈이온수를 첨가하여 총 50μl로 하여 증폭시킨 후 1.5%의 한천겔(iNtRON, biotechnology)에서 전기영동한 뒤 ethidium bromide로 염색하여 각 band의 밀도를 측정하였다. 증폭방법은 IL-6는 94℃에서 5분간 1회, 94℃에서 30초, 55℃에서 30초, 72℃에서 1분씩 35회 반응시키고, 72℃에서 10분간 1회 시행하였고, IL-1β는 94℃에서 5분간 1회, 94℃에서 30초, 58℃에서 1분, 72℃에서 1분 30초씩 38회 반응시키고, 72℃에서 10분간 1회 시행하였으며, IL-2와 IFN-γ는 94℃에서 5분간 1회, 94℃에서 30초, 58℃에서 1분, 72℃에서 1분 30초씩 35회 반응시키고, 72℃에서 10분간 1회 시행하였다. 내인성 표준물질로는 housekeeping gene인 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase(GAPDH) 유전자를 사용하였으며, cDNA의 일부를 94℃에서 5분간 1회, 94℃에서 30초, 58℃에서 1분, 72℃에서 1분 30초씩 21회 반응시키고, 72℃에서 10분간 1회 시행하여 증폭하였다. 각 유전자의 primer는 GenBank에 등록된 염기서열을 참고하여 제작하였으며, genomic DNA가 증폭되는 현상을 방지하기 위하여 적어도 1개의 intron이 포함되게 하였다(Table 1).

3. 통계처리

각 그룹의 체온의 변화는 LPS투여 직전, 자침 직전(LPS투여 20.5시간 후), 자침 직후, 자침후 10분, 자침후 20분, 자침후 30분에 체온을 관찰하여 평균값을 비교하였고, t-test로 유의성을 검정하였다.

Table 1. Sequence of Primers, Fragment Sizes

CDNA		Sequence of primers	Fragment size (bp)
IL-6	S	5' -GACTGATGTTGTTGACGCCACTGC-3'	509
	A	5' -TAGCCACTCCTTCTGTGACTCTAACT-3'	
IL-1 β	S	5' -TTCTTTTCCTTCATCTTTGAAGAAG-3'	362
	A	5' -TCCATCTTCTTCTTTGGGTATTGTT-3'	
IL-2	S	5' -AACACAGCAGCACCTGGA-3'	321
	A	5' -TGAGCCATGAGCAACTGTGGT-3'	
IFN- γ	S	5' -TTGGATATCTGGAGGAACTG-3'	275
	A	5' -AGAGTGATTCACCAGCTGTC-3'	
GAPDH	S	5' -TCCCTCAAGATTGTCAGCAA-3'	309
	A	5' -AGATCCACAACGGATACATT-3'	

S: sense, A: anti-sense

각 유전자의 mRNA 발현은 housekeeping gene인 GAPDH의 발현으로 보정하여 평균값을 비교하였고, t-test로 유의성을 검정하였다.

실험 성적

1. LPS 투여로 인한 고열 유발

LPS 투여로 인한 고열의 유발을 보기 위해 LPS 투여 전과 LPS 투여 후의 체온을 관찰하여 평균값을 비교하였다. LPS 투여 전에는 체온이 $38.18 \pm 0.31^\circ\text{C}$, LPS 투여 후 20.5시간이 되는 시점에서는 체온이 $38.91 \pm 0.54^\circ\text{C}$ 이었고 LPS 투여 후 20.5시간에서 LPS 투여 전에 비해 유의성있는 체온의 변화가 관찰되었다(Fig. 1).

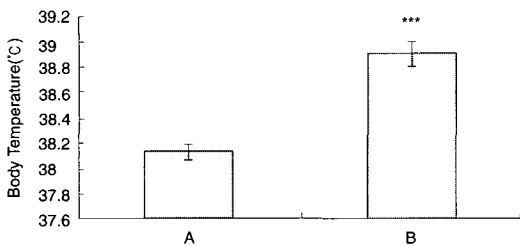


Fig. 1. Effect of LPS injection on body temperature of rats after 20.5 h.

a) : $M \pm S.D$ (Mean \pm standard deviation)
 * : Statistically significant compared with A group (***) : $P < 0.001$
 A : Group before LPS injection
 B : Group after LPS injection

2. 침치료 후 체온의 변화

자침 직후, 자침후 10분, 자침후 20분, 자침후 30분에 체온을 측정하여 침치료 직전의 체온을 기준으로 하여 대조군, 통곡군, 소부군, 행간군, 임의군의 체온의 변화량을 관찰한 결과, 자침 직후에는 각각 $0.10 \pm 0.49^\circ\text{C}$, $-0.50 \pm 0.27^\circ\text{C}$, $-0.05 \pm 0.31^\circ\text{C}$, $-0.10 \pm 0.42^\circ\text{C}$, $0.02 \pm 0.13^\circ\text{C}$ 이었고, 자침후 10분에는 $0.12 \pm 0.05^\circ\text{C}$, $-0.50 \pm 0.37^\circ\text{C}$, $-0.18 \pm 0.26^\circ\text{C}$, $-0.25 \pm 0.29^\circ\text{C}$, $0.10 \pm 0.20^\circ\text{C}$ 이었고, 자침후 20분에는 $0.32 \pm 0.49^\circ\text{C}$, $-0.55 \pm 0.44^\circ\text{C}$, $-0.33 \pm 0.24^\circ\text{C}$, $-0.28 \pm 0.40^\circ\text{C}$, $-0.02 \pm 0.22^\circ\text{C}$ 이었고, 자침후 30분에는 $0.20 \pm 0.58^\circ\text{C}$, $-0.58 \pm 0.45^\circ\text{C}$, $-0.42 \pm 0.32^\circ\text{C}$, $-0.32 \pm 0.32^\circ\text{C}$, $-0.28 \pm 0.39^\circ\text{C}$ 이였다. 자침후 10분에 통곡군이 대조군에 비해 유의성있는 체온의 감소가 있었고, 자침후 20분에 통곡군, 소부군 및 행간군이 대조군에 비해 유의성있는 체온의 감소가 있었으며, 자침후 30분에는 통곡군이 대조군에 비해 유의성있는 체온의 감소가 있었다(Table 2).

3. LPS 투여로 인한 흰쥐 시상하부에서의 IL-6 mRNA 발현 증가

흰쥐의 시상하부에서 IL-6의 mRNA 발현을 housekeeping gene인 GAPDH의 발현으로 보정하여 관찰한 결과 LPS를 투여한 후 21시간이 되는 시점에서 정상군과 대조군의 IL-6/GAPDH 값이 각각 0.81 ± 0.08 , 1.05 ± 0.12 이었고, 두 그룹간에 유의한 차이가 인정되었다(Fig. 2).

Table 2. Effect of Acupuncture Stimulation on Body Temperature in LPS-Injected Rats

Group	No. of rats	Changes of Body Temperature (°C)			
		Right after	After 10 min	After 20 min	After 30 min
C	6	-0.10±0.49 ^{a)}	0.12±0.05	0.32±0.49	0.20±0.58
A1	6	-0.50±0.27	-0.50±0.37*	-0.55±0.44**	-0.58±0.45*
A2	6	-0.05±0.31	-0.18±0.26	-0.33±0.24*	-0.42±0.32
A3	6	-0.10±0.42	-0.25±0.29	-0.28±0.40*	-0.32±0.32
NA	5	0.02±0.13	0.10±0.20	-0.02±0.22	-0.28±0.39

a) : M ± S.D (Mean ± standard deviation)
 * : Statistically significant compared with C group (* : P<0.05, ** : P<0.01)
 C : group without acupuncture stimulation after LPS injection
 A1 : group with acupuncture stimulation on Tonggok (BL66) 20.5 h after LPS injection
 A2 : group with acupuncture stimulation on Sobu (HT8) 20.5 h after LPS injection
 A3 : group with acupuncture stimulation on Haenggan (LR2) 20.5 h after LPS injection
 NA : group with acupuncture stimulation on non-acupoint 20.5 h after LPS injection

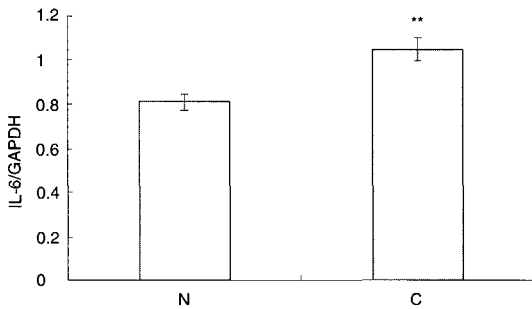


Fig. 2. Effect of LPS injection on IL-6 mRNA level of the hypothalamus in rats after 21 h.

* : Statistically significant compared with N group (** : P<0.01)
 N : group without LPS injection
 C : group with LPS injection

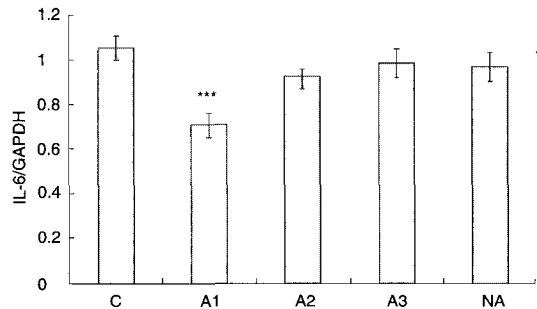


Fig. 3. Effect of acupuncture stimulation on the level of IL-6 mRNA in the hypothalamus of LPS-injected rats.

* : Statistically significant compared with C group (*** : P<0.001)
 C : group without acupuncture stimulation after LPS injection
 A1 : group with acupuncture stimulation on Tonggok (BL66) 20.5 h after LPS injection
 A2 : group with acupuncture stimulation on Sobu (HT8) 20.5 h after LPS injection
 A3 : group with acupuncture stimulation on Haenggan (LR2) 20.5 h after LPS injection
 NA : group with acupuncture stimulation on non-acupoint 20.5 h after LPS injection

4. 침치료 후 흰쥐 시상하부에서의 IL-6 mRNA 발현 비교

LPS를 투여한 후 20.5시간이 되는 시점에서 침치료를 하고 30분 후 시상하부에서의 IL-6 mRNA 발현을 housekeeping gene인 GAPDH의 발현으로 보정하여 평균값을 관찰한 결과, 대조군, 통곡군, 소부군, 행간군, 임의군의 IL-6/GAPDH 값이 각각 1.05±0.12, 0.71±0.10, 0.93±0.06, 0.98±0.15, 0.96±0.14이었고, 통곡군에서 대조군에 비해 IL-6 mRNA 발현이 유의성있게 감소하였다(Fig. 3).

5. LPS 투여로 인한 흰쥐 시상하부에서의 IL-1β mRNA 발현 증가

흰쥐의 시상하부에서 IL-1β의 mRNA 발현을

housekeeping gene인 GAPDH의 발현으로 보정하여 관찰한 결과 LPS를 투여한 후 21시간이 되는 시점에서 정상군과 대조군의 IL-1β/GAPDH 값이 각각 0.47±0.06, 1.07±0.14이었고, 두 그룹간에 유의한 차이가 인정되었다(Fig. 4).

6. 침치료 후 흰쥐 시상하부에서의 IL-1β mRNA 발현 비교

LPS를 투여한 후 20.5시간이 되는 시점에서 침치료를 하고 30분 후 시상하부에서의 IL-1β mRNA 발현을 housekeeping gene인 GAPDH의 발현으로 보정

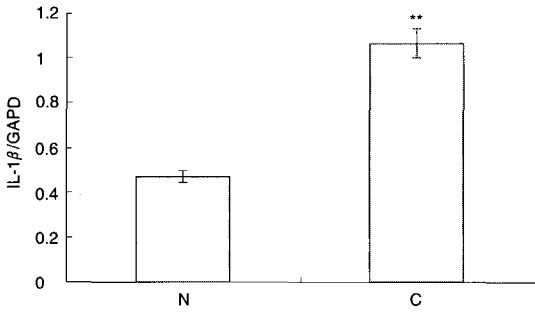


Fig. 4. Effect of LPS injection on IL-1β mRNA level of the hypothalamus in rats after 21 h.
 * : Statistically significant compared with N group (***) : P<0.001)
 N : group without LPS injection
 C : group with LPS injection

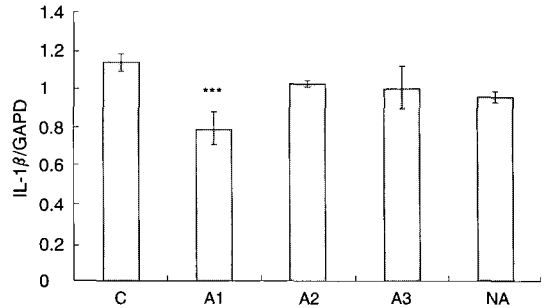


Fig. 5. Effect of acupuncture stimulation on the level of IL-1β mRNA in the hypothalamus of LPS-injected rats.
 * : Statistically significant compared with C group (* : P<0.05)
 C : group without acupuncture stimulation after LPS injection
 A1 : group with acupuncture stimulation on Tonggok (BL66) 20.5 h after LPS injection
 A2 : group with acupuncture stimulation on Sobu (HT8) 20.5 h after LPS injection
 A3 : group with acupuncture stimulation on Haeggan (LR2) 20.5 h after LPS injection
 NA : group with acupuncture stimulation on non-acupoint 20.5 h after LPS injection

하여 평균값을 관찰한 결과, 대조군, 通谷군, 少府군, 行間군, 임의군의 IL-1β/GAPDH 값이 각각 1.14±0.08, 0.79±0.20, 1.02±0.01, 0.96±0.26, 1.01±0.07이었고, 通谷군에서 대조군에 비해 IL-1β mRNA 발현이 유의성있게 감소하였다(Fig. 5).

7. 흰쥐 시상하부에서 IL-2와 IFN-γ의 mRNA 발현 비교

LPS를 투여한 후 20.5시간이 되는 시점에서 침치료를 하고 30분 후 시상하부에서의 IL-2와 IFN-γ의 mRNA 발현을 housekeeping gene인 GAPDH의 발현으로 보정하여 평균값을 관찰한 결과, 정상군을 비롯한 대조군, 통곡군, 소부군, 행간군, 임의군 모두에서 IL-2와 IFN-γ의 mRNA가 발현되지 않았다(Data not shown).

고찰

한의학에서는 체온을 막연히 陰陽으로만 논하여 왔으나 체온이 어디에서 무슨 작용으로 조절된다는 뚜렷한 明論이 없다. 그러나 개념적으로 볼 때 眞陰陽, 즉 先天癸水(精)와 氣, 心火(君火) 命門火(相火)에 근원을 두고 榮衛(氣血)의 작용에 의하여 조절되는 것으로 볼 수 있다. 東醫寶鑑에 의하면 “血爲營 血爲氣主”, “氣爲衛 衛於外, 氣爲呼吸之根 氣爲精神之根.”

이라 하고 靈樞·本藏篇³⁾에 “衛氣者 所以溫分肉而充皮膚, 肥腠理而可開闔故衛氣溫則形分足矣.”라 하여 이 衛氣는 피부의 배설 및 수축기능을 말하는 것으로 이와 같은 피부기능이 주로 체온을 조절하게 되는 것이다. 즉 이러한 營衛機能이 실추되면 발열이나 체온이 정상이하로 떨어지는 병리적 상태가 초래된다²⁾.

체온은 학술적으로는 ‘신체의 주요 내장의 온도로서 의미없는 우연한 변화를 하지 않는 곳의 온도로서, 그것이 실제로 측정할 수 있는 것이어야 한다’고 정의하고, 이 조건에 가장 가까운 것으로 항문에서 6cm 이상 들어간 곳에서 측정한 직장 온도를 표준체온으로 하고 있다. 본 실험도 그런 면에서 직장 온도를 측정 비교하였다.

발열이란 임상에서 흔히 볼 수 있는 질병이라기 보다 급만성 질환에서 나타나는 하나의 증후로 인식되며 각종 원인에 의하여 체온이 정상범위(35.8℃~37.2℃) 이상으로 증가하는 것으로 素問·陰陽應上大論⁵⁾에서는 “陽勝則熱 陰勝則寒”이라 하고 素問·論⁵⁾에서는 “陽盛則外熱 陰虛則內熱”이라 하여 實熱과 虛熱을 구분하였고, 원인은 內因, 外因, 不內外因

으로 크게 3가지로 분류하였는데 素問·脈要精微論⁵⁾에서 “風成爲寒熱”이라 하였고 素問·熱論⁵⁾에서는 “今夫熱者 皆傷寒之類也 人之傷于寒也則病”이라 하여 발열이 주로 外因에 기인함을 기술하였고, 內因은 素問·厥論⁵⁾에 “此人必數醉若飽以入房 …… 酒氣與穀氣相薄 熱盛於中故熱偏於身 ……”이라 하고, 素問·五運行大論⁵⁾에 “喜傷心 恐勝喜 熱傷氣 ……”라 하여 醉以入房, 勞倦등으로 陰虛한 것과 七情에 의한 것을 말하며, 不內外因은 素問·異法方宜論⁵⁾에 “南方生熱 熱生火 …… 其民食雜而不勞 故其病多 厥寒熱”이라 하여 지역과 개인생활의 차에 의한 것을 말하였다²²⁾.

발열의 치료방법에 있어서는 靈樞·刺熱論³⁾에 “諸治熱病以飲之寒水乃刺之”라 하여 寒水를 마시거나 자침하였고, 자침에서는 59刺가 사용되었다. 한편 五輸穴은 特定穴중 하나로 井, 榮, 輸, 經, 合의 다섯혈을 포함한 十二經脈의 肘膝關節以下 輸穴의 명칭으로, 특정부위와 오행속성, 특수작용을 갖고 있다. 靈樞·九鍼十二原³⁾에 “五臟五輸, 五五二十五輸……所出爲井, 所溜爲榮, 所注爲輸, 所行爲經, 所入爲合, ……”라 하여 脈氣의 순행을 강물의 흐름으로 비유하여 井은 물 흐름의 원천으로, 물이 흘러나오는 곳으로 대개 손, 발가락의 끝에 있고 經氣의 기시점이며, 榮은 원천에서 나온 작은 흐름으로 물은 적으나 물살은 빠른 특징을 지녀 脈氣를 이끌어 나가는 곳이고, 輸는 물이 운송, 주입되어 적은데서 많은 데로 점차 脈氣가 들어가는 곳이며, 經은 지나감의 의미로 물이 점점 많아져 脈氣가 점차 커지고 흐름도 넓어진 곳이고 合은 모인다는 뜻으로 마치 하류들이 바다로 흘러드는 것과 같이 經脈의 氣가 깊게 모이고 肘膝關節로 들어가 다른 經氣와 相合하는 곳이라 하였다. 이는 五輸穴의 부위와 깊이에 따라 다른 작용이 있음을 말해준다. 難經·64難⁴⁾에 “陰井木, 陽井金, 陰榮火, 陽榮水, 陰輸土, 陽輸木, 陰經金, 陽經火, 陰合水, 陰合土 ……”라 하여 五輸穴은 각각 五行속성을 갖고 陰經과 陽經의 井, 榮, 輸, 經, 合의 속성은 서로 五行의 夫婦相合관계로 연계되어 서로 조화를 이루고 있다. 難經·68難⁴⁾에 “五臟六腑, 皆有井榮輸經合, ……”

井主心下滿, 榮主身熱, 輸主體重節痛, 經主喘咳寒熱, 合主逆氣而泄, 皆五臟六腑 井榮輸經合 所主病也”라 하고 靈樞·順氣一日分四時³⁾에 “病在臟者, 取之井, 病變於色者, 取之榮, 病時間時深者, 取之輸, 病變於陰者, 取之經, 經滿而血者, 病在胃及以 飲食不節得病者 取之合 故命曰 味主合”이라 하여 五輸穴 각각은 특수 치료작용이 있고 主治疾病의 특징을 갖고 있다²³⁾. 鍼灸聚英²⁴⁾에 “假令得弦脈, 病人善潔, 面青善怒, 此膽病也. 若心下滿當刺竅陰, 身熱當刺俠谿 ……”라 하였는데 그 예가 된다.

이에 본 실험자는 LPS라는 발열인자를 흰쥐에 투여하여 일종의 外因으로서 발열을 유발한 후 발열치료법의 하나인 자침을 통해 체온을 정상범위로 하강시키는 실험을 하였다. 이때 자침하는 혈은 오수혈중 榮穴로서 오행속성상 陽經은 水, 陰經은 火로서 水火는 음양의 징조로 음양을 잘 조절하면 체온을 생리적으로 조절할 수 있을 것이며 또한 ‘主身熱’하는 주치작용이 있으므로 이것을 이용하면 발열상태에서 체온을 생리적으로 하강시켜 항상성을 유지하게 하는데 좋은 지표가 되리라 생각하였다.

LPS 투여로 인해 발열이 유발된 흰쥐에서 자침 후 체온변화를 관찰한 결과 형혈인 通谷, 少府, 行間에 각각 자침한 군에서 자침하지 않은 대조군에 비해 시간에 따라 유의성있게 체온이 감소하였다. 이는 형혈의 ‘主身熱’하는 주치작용을 실험적으로 보여주는 결과라 생각된다.

LPS는 그람음성 세균의 세포벽으로부터 추출된 내독소(endotoxin)이다²⁸⁾. LPS 투여는 발열과 염증을 포함하는 세균감염의 증상을 일으킨다. LPS 투여로 인한 증상은 2시간 정도 후에 나타나는데 이는 cytokine의 분비를 자극하여 급성기반응(APR)을 일으키기 때문이다²⁹⁾.

LPS는 크게 세 가지 경로를 통해 이러한 효과를 일으키는데 첫 번째는 cytokine의 활동적인 전달을 통한 경로이다. LPS 투여는 IL-1과 TNF- α 와 IL-6의 국소증가와 IL-6의 혈장내 증가를 일으킨다³⁰⁾. 또, LPS 투여는 IL-1의 합성을 유발하고 IL-1은 IL-6의 합성을 자극하는데 IL-6가 실제적으로 이러한 효과

를 일으키는데 중요한 역할을 한다³¹⁾. IL-1과 IL-6, TNF- α 는 모두 내독성 발열물질(endogenous pyrogen, EP)로서 직접적 또는 간접적으로 뇌에 영향을 주어 체온증가를 유발시키며³⁰⁾ 그 중 IL-6는 급성기반응에 핵심적인 중재자이며, 신경계와 내분비계의 세포간 전달물질로서 폭넓게 작용한다³²⁾.

두 번째는 LPS에 의해 생성이 촉진된 cytokine이 circumventricular organs (CVOs)를 통해 뇌로 침투하는 경로이다. 혈장에 있는 cytokine들은 적은 양이긴 하지만 blood brain barrier (BBB)을 통해 중추신경계로 침투해 들어간다. LPS 투여 후 IL-6의 mRNA가 CVOs에서 발현되었다는 보고가 있는데 CVOs는 BBB 밖에 있는 뇌부위로서 Organum vasculosum laminae terminalis(OVLT), Subfornical organ(SFO), Median eminence(ME), Area postrema(AP) 등을 포함하고 있다. IL-1 β 와 TNF- α 의 mRNA도 LPS에 의해 CVOs 등의 부위에서 발현되었다.

세 번째는 미주신경과 같은 말초신경을 통해 활성화되는 경로인데 미주신경은 특별한 신경경로를 통해 시상하부 등과 같은 뇌의 여러부위에 연결되어 있다. 이러한 경로는 특히 LPS의 복강내투여로 인한 IL-1의 작용에 의해 이루어진다³³⁾.

시상하부는 체온조절중추로 잘 알려져 있는데 이 체온조절중추는 OVLT 등을 포함하는 CVOs와 같은 전시상하부에 있는 신경다발로서 내독성 발열물질이 근처의 풍부한 혈관조직에 영향을 줌으로써 활성화된다. 대표적으로 IL-1이나 IL-6와 같은 cytokine은 prostaglandin이나 CRF(corticotropin releasing factor)의 활성을 촉진함으로써 시상하부에 영향을 주며 이로 인해 체온증가나 체온감소가 유발된다³⁰⁾. IL-6는 면역계의 세포들 뿐만 아니라 시상하부, 전뇌하수체, 부신수질 등과 같은 뇌세포에 의해서도 생성되며 LPS 투여시 IL-1의 작용에 의해 전시상하부에서 발견된다³⁵⁾. 정상상태의 시상하부에서 IL-6의 mRNA 발현에 대해서는 논란의 여지가 많으나 LPS 투여시 IL-1의 작용에 의한 IL-6 mRNA 발현은 LPS로 인한 발열 현상에 중요한 역할을 한다³⁶⁾. IL-6는 IL-1, IL-8, TNF- α , IFN- γ 등과 더불어 proinflammatory cytokine

중의 하나로서 감염이나 면역반응 시에 식욕부진, 발열과 같은 증상을 일으킨다³⁷⁾. IL-6는 LPS 투여로 인한 현상에 IL-1 β 와 더불어 직접적이고 중추적인 역할을 하는 물질로서 생체내의 여러 부위에서 HPA (hypothalamic-pituitary-adrenocortical) axis의 활성화에도 영향을 미치는 것으로 알려져 있다³⁸⁾.

IL-2는 면역계에서 B-cell과 T-cell의 분비 및 분화를 촉진하는 등 면역반응을 활성화시키는 cytokine의 하나이다. IFN- γ 는 IL-12에 의해 활성화되어 T-cell과 TNF의 분비를 촉진함으로써 LPS로 인한 감염증상을 일으키는데 기여하는 것으로 알려져 있다³⁹⁾. 이상의 내용을 종합하면 IL-2와 IFN- γ 는 면역반응에 작용하는 중요한 인자이며, IL-1 β 와 IL-6는 여러 경로를 통해 뇌에 영향을 줌으로써 면역반응에서 작용하는 신경활성 물질로서 시상하부에서 이들의 mRNA 발현은 발열을 주증상으로 하는 LPS로 인한 면역유발현상을 나타내주는 증거라 할 수 있다.

한의학에서는 素問·上古天眞論⁵⁾에 “眞氣從之 精神內守, 病安從來.”, 靈樞·百病始生篇³⁾에 “風雨寒熱不得虛 邪不能獨傷人” 素問·刺法論⁹⁾에 “正氣存內, 邪不可干.”, 素問·評熱病論⁵⁾에 “邪氣所湊, 其氣必虛”라 하여 질병의 발생 및 발전이 인체의 정기와 사기의 항쟁 및 消長進退의 과정으로 인식하여, 특히 정기는 질병 발생의 내적 근거가 되어 인체의 정기가 왕성하면 사기가 쉽게 침범하지 못하고 정기가 허약할 때 사기가 그 틈을 타서 침범하여 질병이 발생하게 되므로 정기를 보하고 사기를 제거하는 扶正祛邪法을 치료원칙으로 삼았으며 이는 서양의 면역개념과 상통된다⁶⁾.

침구치료에 있어서도 靈樞·刺節眞邪篇³⁾에 “用鍼之類, 在於調氣”, 素問·寶命全形論⁹⁾에 “凡刺之眞, 必先治神.”의 이론에 근거하여 調氣治神의 과정을 통해 사기가 盛한 實證은 瀉하고 정기가 虛한 虛證은 補하는 補虛瀉實로 생체의 각 기관 조직의 정기를 강화시키고 외부에 대한 면역기능을 증강시켜 항상성을 유지시킨다^{6,8,9)}.

이러한 침자극에 의한 면역조절에 관한 연구들이 있는데 대부분 면역증가의 지표로 말초장기에서의

면역반응을 관찰한 것에 지나지 않는다. 金²⁵⁾ 등은 腎俞의 鍼刺戟과 黃芪藥鍼이 실험용 생쥐의 면역활성 물질인 IL-1 α 의 유전자 발현에 미치는 영향을 관찰하였고, Yu²⁶⁾ 등은 足三理의 전기자극에 의해 쥐의 비장에서 NK cytotoxicity, IL-2와 IFN- γ 기능활성의 증가를 관찰한바 있고, Du²⁷⁾ 등은 足三理와 闕尾의 자극 후 3일과 5일 후에 쥐의 비장에서의 IL-2의 유의한 증가를 보고하였다.

본 실험은 침자극 중 형혈자침으로 LPS로 유발된 발열상태의 흰쥐의 체온조절 중추인 시상하부에 나타난 면역반응의 IL-6, IL-1 β , IL-2, IFN- γ 의 유전자 발현에 미치는 영향을 관찰하였다.

본 실험의 결과 IL-6와 IL-1 β 의 mRNA는 정상군에 비해 대조군에서 유의성있게 증가하였으며, IL-2와 IFN- γ 의 mRNA 발현은 유의성 있는 변화를 나타내지 않았다. 특히 通谷에 자침한 군에서 IL-6와 IL-1 β 의 mRNA 발현이 대조군에 비해 유의성있게 감소하였고 정상군과는 유의성있는 차이가 없었다. 이를 통해 형혈자침의 체온하강기전이 시상하부에서의 면역반응에 영향을 미치고 있음을 알 수 있다.

발열은 외부의 자극을 통해 생기는 염증반응, 즉 면역계의 활성화에 있어서 대표적인 자각적, 타각적 증상이다. 그러므로 본 실험에서 인위적인 염증반응을 일으켜 침치료의 효과를 살펴본 것은 체온조절을 매개로 하여 면역계에 미치는 영향을 살펴본 것이라 할 수 있다.

榮穴로 사용된 通谷, 少府, 行間이 모두 발열을 억제시켰지만 通谷에 자침했을 때만 시상하부에서 면역학적인 변화가 나타났다. 이것은 五行적으로 보았을 때, 通谷은 水經인 足太陽膀胱經의 水穴이고, 少府는 火經인 手少陰心經의 火穴, 行間은 木經인 足厥陰肝經의 火穴이기 때문에 水經의 水穴인 通谷이 가장 큰 효과를 보인 것으로 보인다²⁸⁾. 또, 본 실험에서는 補瀉法을 사용하지 않고 直刺하여 자극하였는데 다양한 보사법을 활용하고 자극 경혈을 추가하여 실험한다면 더 깊이 있는 연구결과가 나올 것으로 사려된다.

결론

한의학적 五輸穴이론에 근거하여 榮穴刺鍼의 體溫下降효과와 中樞性免疫에 미치는 영향을 살펴보기 위해 자침후 체온 변화와 시상하부에서 IL-6와 IL-1 β 의 mRNA 발현을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. LPS 투여로 인해 발열이 유발된 흰쥐에서 자침후 체온변화를 관찰한 결과 榮穴인 通谷, 少府, 行間에 각각 자침한 군에서 대조군에 비해 시간에 따라 유의성있게 체온이 감소하였다.

2. LPS 투여로 인해 발열이 유발된 흰쥐의 시상하부에서 IL-6, IL-1 β , IL-2, IFN- γ 의 mRNA 발현을 관찰하였는데, IL-6와 IL-1 β 의 mRNA는 정상군에 비해 대조군에서 유의성있게 증가하였으며, IL-2와 IFN- γ 의 mRNA 발현은 유의성 있는 변화를 나타내지 않았다. 특히 通谷에 자침한 군에서 IL-6와 IL-1 β 의 mRNA 발현이 대조군에 비해 유의성있게 감소하였고 정상군과는 유의성있는 차이가 없었다.

결론적으로 LPS 투여로 인해 발열이 유발된 흰쥐에서 榮穴인 通谷, 行間, 少府에 자침했을 때 자침하지 않은 군이나 임의혈에 자침한 군과 비교하여 뚜렷한 체온하강효과를 나타냈고 이는 침자극의 체온하강효과와 더불어 오수혈 중 榮穴자침의 “主身熱” 하는 특징적인 효능을 보여주는 결과라 할 수 있다. 또한 通谷穴 자침시 체온중추인 시상하부에서 내인성 발열인자로 작용하는 IL-6와 IL-1 β 의 mRNA 발현이 정상에 가깝게 회복되는 것은 침자극의 체온하강효과가 중추성 면역반응과 연관되어 이루어지는 것임을 나타낸다고 사려된다.

참고문헌

1. 이학인, 김양식, 김연섭. 임상경락수혈학. 서울:법민문화사. 2000:121-122.
2. 전국한외과대학 침구·경혈학교실. 침구학(상). 서울:집문당. 1994:45-61,175,383,528-529.
3. 홍원식. 교감지역황제내경영추. 서울:전통문화연구

- 회. 1994:431,488.
4. 활수원저, 오손촌중의사 편저. 난경. 세일서국인행. 중화민국칠십년.
 5. 배병철. 금역황제내경소문. 서울:성보사. 1999:49, 769,341,285.
 6. 최민섭, 고희균, 김창환. 침구요법이 면역기능에 미치는 영향에 관한 고찰. 대한침구학회지. 1993;7:61-74.
 7. 대전대한의대 6기졸준위. 국역침구경위해석. 대전: 도서출판한맥. 1996:31-32
 8. 채우석. 면역질환의 한방개념과 치료에 관한 문헌적 고찰. 대한한의학회지. 1990;10:54-91.
 9. 박경미, 임종국. 면역의 실험문헌적 고찰. 동국대학교 한의학연구소 논문집. 1999;8:1-33.
 10. 고경석. 인삼수침이 Methotrexate를 투여한 생쥐의 면역반응에 미치는 영향. 경희한의대 박사논문. 1988.
 11. 김대주. 삼종의 제법에 따른 인삼수침이 Methotrexate를 투여한 생쥐의 면역반응에 미치는 영향. 경희한의대 석사논문. 1989.
 12. 노종식. 녹용 인삼 초 수침의 당뇨병에 대한 효과 및 면역기능에 미치는 영향. 경희한의대 박사논문. 1988.
 13. 김영순. 침·구 및 전침자극이 3-methyl cholanthrene에 의한 암종유발억제 및 면역에 미치는 영향. 경희한의대 박사논문. 1988.
 14. 류태성. Laser침이 당노단백서의 혈청 및 세포성 면역에 미치는 영향. 경희한의대 석사논문. 1989.
 15. 이상범. 애구가 한냉자극으로 저하된 생쥐의 면역기능에 미치는 영향. 경희한의대 석사논문. 1992.
 16. 이종현. 침자극이 3-methyl cholanthrene으로 유발된 실험동물의 종양발생 억제에 미치는 영향. 경희한의대 석사논문. 1988.
 17. 주태정. 온침이 한냉에 노출된 생쥐의 면역기능저하에 미치는 영향. 경희한의대 석사논문. 1992.
 18. 림소경. 침구대백혈구적 영향. 침구연구논문전집, 중국 의약학원중심출판, 1985:238.
 19. 송윤희. 온침이 Methotrexate를 투여한 생쥐의 면역반응저하에 미치는 영향. 경희한의대 석사논문. 1989.
 20. Kuang X, Liang C, Liang Z, Lu C, Zhong G. The effect of acupuncture on rabbits with fever caused by endotdxin. Chen Tzu Yen Chiu 1992;17(3):212-216.
 21. 이기순. 체온과 음양. 대한한의학회지. 1965;3:31-32.
 22. 권현, 정승기, 이형구. 발열에 관한 문헌적 고찰 (황제내경을 중심으로). 대한한방내과학회지. 1990; 11(1):1-13.
 23. 최용태, 이해정, 임사비나 공역. 경전침구학. 일중사. 2000:194-207.
 24. 고식. 침구취영 서울:동남출판사. 1985:152.
 25. 김종수. 신수혈의 침자극과 황기약침이 실험용 생쥐의 면역활성물질인 cytokine의 IL발현에 미치는 영향. 대한침구학회지 1998;12:147-155.
 26. Yu Y, Kasahara T, Sato T, Guo SY, Liu Ya, Asano K Hisamitsu T. Enhancement of splenic IFN- γ , IL-2 and NK cytotoxicity by 족삼리(ST36) acupoint acupuncture in F344 rats. Jpn. J. Physiol. 1997;47(2):173-178.
 27. Du L, Jiang J, Cao X. Time course of the effect of electroacupuncture on immunomodulation of normal rat. Chen Tzu Yen Chiu. 1995;20(1):36-39.
 28. Kobierski, L.A., Srivastava, S. and Borsook, D., Systemic lipopolysaccharide and interleukin-1 β activate the interleukin-6: STAT intracellular signaling pathway in neurons of mouse trigeminal ganglion. Neurosci. Lett., 2000;281:61-64.
 29. Luheshi, G., Miller, A.J., Brouwer, S., Dascombe, M.J., Rothwell, N.J. and Hopkins, S.J., Interleukin-1 receptor antagonist inhibits endotoxin fever and systemic interleukin-6 induction in the rat. Am. J. Physiol., 1996;270:E91-95.
 30. Luheshi, G.N., Cytokines and Fever: Mechanisms and Sites of Action, Annals of the New York Academy of Sciences, 1998;856:83-89.
 31. Bluthe, R.M., Michaud, B., Poli, V. and Dantzer, R., Role of IL-6 in cytokine-induced sickness behavior: a study with IL-6 deficient mice. Physiology & Behavior 2000;70:367-373.
 32. Akira, T. Taga, T. Kishimoto, Interleukin-6 in biology and medicine, Adv. Immunol. 1993;54:1-78.
 33. Quan, N., Stern, E.L., Whiteside, M.B. and Herkenham, M., Induction of pro-inflammatory cytokine mRNAs in the brain after peripheral injection of subseptic doses of lipopolysaccharide in the rat, Journal of Neuroimmunology 1999;93:72-80.
 34. Goehler, L.E., Relton, J.K., Dripps, D., Kiechle, R., Tartaglia, N., Maier, S.F. and Watkins, L.R., Vagal paraganglia bind biotinylated interleukin-1 receptor antagonist: a possible mechanism for immune-to-brain

- communication, *Brain Res. Bull.*, 1997;43:357-364.
35. Klir, J.J., McClellan, J.L. and Kluger, M.J., Interleukin-1 beta causes the increase in anterior hypothalamic interleukin-6 during LPS-induced fever in rat. *Am. J. Physiol.*, 1994;266:R1845-1848.
36. Klir, J.J., Roth, J., Szelenyi, Z., McClellan, J.L. and Kluger, M.J., Role of hypothalamic interleukin-6 and tumor necrosis factor-[alpha] in LPS fever in rat. *Am. J. Physiol.*, 1993;265:R512-517.
37. Turrin, N.P. and Plata-Salaman, C.R., Cytokine-cytokine interactions and the barin, *Brain Research Bulletin*, 2000;51:3-9.
38. Jianping W. and Dunn, A.J., the role of interleukin-6 in the activation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis and brain indoleamines by endotoxin and interleukin-1 β , *Brain Res.* 1999;815: 337-348.
39. Peakman M. and Vergani D., *Basic and Clinical Immunology*. New York:Churchill Livingstone. 1997;68-109.