

원저

급성 췌장염모델에서 전침의 치료효과

정상수* · 윤지원* · 정경아* · 이종덕** · 배선준*** · 성강경* · 조장희****

*원광대학교 한의과대학 심계내과학교실

**원광대학교 광주병원 진단방사선학교실

***연세대학교 마취통증학교실

****가천 뇌과학연구소

Abstract

Therapeutic Effects of Electroacupuncture on Cholecystokinin-octapeptide-induced Acute Pancreatitis Models

Cheong Sang-su*, Yoon Ji-won*, Jeong Kyoung-ah*, Lee Jong-deok**, Bai Sun-joon***,
Sung Kang-kyung* and Cho Zang-hee****

*Dept. of Neuroscience and Internal medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

**Dept. of Radiology, Gwang-Ju Hospital, College of Medicine, Wonkwang University

***Dept. of Anesthesiology, College of Medicine, Yonsei University

****Gachon Institute of Brain Science

Objectives : We examined the effects of electroacupuncture on the cholecystokinin-octapeptide-induced acute pancreatitis in rats.

Methods : Rats were administered with 75 μ g/kg cholecystokinin-octapeptide subcutaneously three times (1, 3 and 5h after shaving) for 5days. Three days after finishing cholecystokinin-octapeptide administration, high frequency electroacupuncture (100Hz) and low frequency electroacupuncture (2Hz) were applied to acupoint equivalent to ST36 (Zusanli) for 7 days. The author determined the pancreatic weight/body weight ratio, the levels of pancreatic heat shock protein HSP60 and HSP72. The author also

* 본 논문은 2005년도 원광대학교 교비지원과 과학기술부/한국과학재단 우수연구센터육성사업의 지원에 의하여 수행되었다(R11-2005-014)

· 접수 : 2005년 6월 3일 · 수정 : 2005년 9월 6일 · 채택 : 2005년 9월 10일

· 교신저자 : 성강경, 광주광역시 남구 주월동 543-8 원광대학교 광주한방병원

Tel. 062-670-6414 H.P. 010-4751-6414 E-mail : sungkk@wonkwang.ac.kr

assayed the secretion of β -amylase, lipase and pro-inflammatory cytokines in serum. Repeated cholecystokinin-octapeptide treatment resulted in the typical laboratory and morphological changes of experimentally induced pancreatitis.

Results : Electroacupuncture significantly decreased the pancreatic weight/body weight ratio in cholecystokinin-octapeptide-induced acute pancreatitis, increased the pancreatic levels of HSP60 and HSP72, and decreased β -amylase and lipase levels in cholecystokinin-octapeptide-induced acute pancreatitis. Additionally, the secretion of Interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α was decreased in the animals treated with electroacupuncture.

Conclusion : These results suggest that electroacupuncture may have protective effects against cholecystokinin-octapeptide-induced acute pancreatitis.

Key words : electroacupuncture, cholecystokinin-octapeptide, acute pancreatitis

I. 서 론

침치료는 특정한 경혈을 자극함으로써 통증의 조절을 비롯한 여러 질병의 예방과 치료에 사용되어 왔다¹⁾. 침치료는 침구치료의 기본원리를 바탕으로 진통효과를 극대화시키는 방법으로 임상에서 다용되고 있으며, 자극의 빈도와 강도에 따라 상이한 효과가 나타나는 것으로 보고되고 있다²⁾.

최근의 연구에서 저주파전침이 opioid 비의존적 경로를 통하여 carrageenan 유도성 족저부종을 억제하는 것이 보고되었으며³⁾, 지연형 과민반응에 대한 전침의 효과가 신경 내분비계의 활성화에 의한 경로를 통한다는 것이 보고되었다⁴⁾. 그러나 췌장염에 대한 전침의 치료 효과에 대해서는 아직 보고된 바가 없었다.

급성 췌장염은 임상에서 흔히 경험하는 급성질환 중의 하나이며, 담석, 음주, 고지혈증 및 고칼슘증 등의 다양한 원인에 의해 발생하는 염증성 질환으로, 상복부의 극렬한 통증과 등부위의 방사통 등의 증상이 수반된다⁵⁻⁶⁾. 이에 대한 분류는 병리학적 양상이 경하고 저절로 호전되는 부종성 췌장염으로부터 췌장괴사의 정도가 심각한 괴사성 췌장염에 이르기까지 다양하다⁷⁾. 특히 가성낭종, 농양, 패혈증, 다발성 장기부전 등과 같은 합병증을 동반하는 경우에는 높은 사망률을 초래할 수 있기 때문에 임상에서 관심의 대상이 되고 있다.

세포는 열충격이나 다른 스트레스를 받으면 열충격단백질 (heat shock proteins; HSPs)이 급속히 합성된다⁸⁾. HSPs는 세포가 스트레스 환경을 극복하는

데 필요한 능력을 증진시켜주는 단백질로⁹⁾, 스트레스 조건이 악화되어 많은 분자들의 단백질이 일부 혹은 전체적으로 변형되면 이때 HSPs가 이것을 인식 하여 손상된 단백질에 결합하여 이들을 안정시키고 보호는 역할을 한다. 이전의 보고에 의하면, HSPs 발현증가는 cerulein에 의한 급성 췌장염 혹은 콜린-결핍 에티오피인 첨가 다이어트 모델에서 방어 효과가 있음이 알려져 있다^{7,10-16)}.

β -amylase와 lipase는 급성 췌장염에 대한 임상적인 검사 소견이다. β -amylase는 보통 증상이 발생하고 2-12시간 이내에 정상보다 5배 이상이 증가되며 lipase도 또한 췌장염이 급성적으로 유발된 경우 정상보다 높은 수치를 나타낸다¹⁷⁾.

Interleukin(IL)-1 β 와 tumor necrosis factor(TNF)- α 는 전 염증성 세포활성물질(pro-inflammatory cytokine)로서, 급성 췌장염이 발생할 때 농도가 현저하게 증가되며, 질환의 진행에 악영향을 미치는 핵심적인 인자이다¹⁸⁻²⁰⁾.

본 연구에서는 Cholecystokinin-octapeptide(CCK)으로 유도된 급성 췌장염에 대한 전침의 치료효과를 알아보기 위하여 몸무게에 대한 췌장무게 비율과 췌장조직에서 HSP60과 HSP72의 발현변화를 조사하였으며, 췌장염증반응 지표 물질인 혈중 β -amylase와 lipase 농도 변화를 확인하였다. 또한 주요한 염증성 세포활성물질인 IL-1 β 와 TNF- α 의 분비량을 측정하였다. 그리고 전침자극과 스트레스와의 관련성을 알아보기 위하여 스트레스 관련 혈액 생화학적 지표 물질인 blood urea nitrogen (BUN), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase

(ALT), lactic dehydrogenase (LDH)를 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

본 실험에 사용된 수컷 Wistar계 백서 (체중 240-270g)는 샘타코 (오산)에서 구입하여 물과 사료를 충분히 공급하면서 실험실 환경에서 일주일간 적응시킨 후 실험을 실시하였다. 실험하기 18시간 전에 금식시켰고 그룹 당 5마리씩 분류하였다.

2) 시약 및 기기

CCK, avidin-peroxidase, 2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), Tris-HCl, NaCl, Triton X-100, benzamidine과 iodoacetamide는 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며, anti-HSP60, HSP72 antibody는 Stressgen (British Columbia, Canada)에서 구입하였다. 또한 anti-rat IL-1 β , TNF- α antibodies, 재조합 IL-1 β , TNF- α 는 R & D Systems(Minneapolis, MN, USA)에서 구입하였다. β -amylase 분석 시약은 amylase (BAYER, USA)를, lipase의 경우 LIP(Roche Diagnostics, USA)를 구입하여 사용하였다. 침은 길이 30mm, 직경 0.25mm의 stainless steel (동방침구, Korea)을 사용하였고, 전침기는 PG-306(YoungMok, Japan)을 사용하였다.

2. 방법

1) 실험군 설정

수컷 Wistar계 백서 20마리를 실험 시작 18시간 전에 금식시키고 그룹 당 5마리씩 분류하였다.

① 정상군 (normal group)

백서에 아무런 처리도 하지 않고 홀더에서 동일한 스트레스 자극을 받은 군

② 대조군 (control group)

백서에 CCK로 급성 췌장염을 유발시킨 후 전침

자극은 주지 않고 홀더에서 동일한 시간 스트레스 자극을 받은 군

③ 실험군 I

백서에 CCK로 급성 췌장염을 유발시킨 후 홀더에서 동일한 시간 스트레스 자극을 받으면서 족삼리 (ST36)에 고빈도 (100Hz) 전침 자극을 가한 군

④ 실험군 II

백서에 CCK로 급성 췌장염을 유발시킨 후 홀더에서 동일한 시간 스트레스 자극을 받으면서 족삼리 (ST36)에 저빈도 (2Hz)로 전침 자극을 가한 군

2) 급성 췌장염 유발

급성 췌장염을 유발시키기 위하여 양성 대조군과 실험군 I, II, 세 그룹은 CCK(75 μ g/kg)를 마우스 털을 깎은 후 1, 3, 5 시간단위로 3회 피하주사 하였다. 이러한 과정을 5일 동안 반복수행 하였으며, 쥐는 <실험동물의 관리와 사용에 대한 NIH Guide>와 현행법에 따라 신중히 다루었다.

3) 전침 자극

전침자극은 췌장염을 유발시킨 후 3일째 되는 날부터 시작하였으며, 매일 1일 1회 7일 동안 같은 시간에 자극을 주어 근육 수축이 보일 정도의 강도로 20분간 진행하였으며, 전침자극 도중 침이 빠지는 경우는 속히 다시 연결하고 시간을 보상하였다. 대조군의 경우는 20분간 실험군과 동일한 홀더 구속 스트레스를 주었다. 7일간 전침 자극을 마친 다음 12시간 후에 회복하였다.

4) Western blot 분석

췌장은 0.02M Tris-HCl, pH 7.8, 0.15M NaCl, 0.1% Triton X-100, 1mM PMSF, 4mM benzamidine, 5mM iodoacetamide가 포함된 ice-cold buffer에 현탁시켰다. 균질 현탁액은 15,000rpm에서 원심분리한 후 단백질을 정량하여 10% SDS-PAGE로 전기영동하였다. 그 후 Nitrocellulose paper에 transfer하고 5% skim milk로 1시간 blocking시킨 다음 HSP60, HSP72에 대한 항체를 1시간동안 처리하였다. 각각에 대한 2차 항체를 30분간 처리하고 ECL detection 용액 (Amersham)으로 확인하였다.

5) 혈청 분리

마지막 전침 자극을 하고 나서 12시간 후에 백서를 마취시켜 회복하였다. Syringe를 이용하여 심장에서 혈액을 채취한 후, 3,000rpm에서 10분간 원심 분리하여 분리한 혈청으로 세포활성물질의 정량과 lipase, β -amylase, BUN, AST, ALT, LDH 수준을 측정하였다.

6) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

세포활성물질 정량은 ELISA 방법을 사용하였으며, 96well plate에서 duplicate로 실행하였다. 각 세포활성물질에 대한 단클론 항체 $1\mu\text{g/ml}$ 를 PBS (pH 7.4)로 희석하여 96well plate에 $100\mu\text{l}$ 씩 입힌 다음 4°C 에서 12시간 동안 방치하였다. 이 plate를 0.05% Tween이 포함된 PBS로 세정한 다음 1% BSA, 5% sucrose, 0.05% NaN_3 가 포함된 PBS로 1시간동안 blocking하였다. 몇 번을 세정한 다음 검체를 첨가한 후 37°C 에서 2시간 동안 방치했다. plate wells 다시 세정하고, biotin이 결합된 항체 $0.2\mu\text{g/ml}$ 를 첨가하여 다시 37°C 에서 2시간 동안 방치하였다. well을 세정한 다음 avidine peroxidase를 첨가하고 37°C 에서 20분 동안 방치하였다. well을 다시 세정한 다음에 ABTS 기질을 첨가하였으며, 발색반응은 ELISA reader를 사용하여 405nm 에서 측정하였으며, 표준 곡선은 순차적으로 희석된 재조합 세포활성물질을 사용하여 각각의 정량에 적용하였다.

7) 통계학적 분석

모든 자료는 $\text{mean} \pm \text{SEM}$ 으로 나타내었고, 통계분석은 SPSS 10.0을 사용하였으며, 평균치의 분석은 student's t-test, Mann-Whitney U test, ANOVA, Kruskal-Wallis H test 등을 통해 유의성을 판정하였다.

III. 실험결과

1. 전침에 의한 췌장의 중량 변화

CCK는 잘 알려진 급성 췌장염 유발물질이다¹⁵⁾. 전침 자극을 주어 치료를 시작한 후 7일째 되는 날, 마지막 전침 자극 12시간 후에 회복하여 췌장의 중

량 변화를 측정하였다. 그 결과 CCK에 의해 유발된 급성 췌장염 쥐에서, 전침으로 자극을 준 그룹의 췌장무게/몸무게 비율은 고빈도 (100Hz) 실험군에서 3.45 ± 0.51 , 저빈도 (2Hz) 실험군에서 3.79 ± 0.23 으로 대조군 4.61 ± 0.31 에 비해 유의성 있게 감소하였다 ($P < 0.05$) (Fig. 1).

2. 전침에 의한 HSPs 발현 변화

전침치료에 의한 HSPs의 발현정도를 알아보기 위하여 분리한 췌장에서 HSP60과 HSP72의 발현량 변화를 조사했다. CCK로 급성 췌장염을 유발한 양성대조군은 정상군에 비해 HSPs의 발현량이 현저히 감소되었다. 그리고 전침 자극을 준 실험군은 대조군에 비해 HSP60과 HSP72의 발현이 증가되었다. 특히 고빈도 전침 자극에 의해 HSP72 발현량은 현저하게 증가되었다 (Fig. 2).

3. 전침에 의한 β -amylase 생성 변화

급성 췌장염의 임상적 지표물질 중 하나인 혈중 β -amylase 수치 변화를 알아보기 위하여 실험동물을 마취시킨 다음 심장에서 혈액을 채취한 후 혈청을 얻어 분석했다. 그 결과 급성췌장염을 유발시킨 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있게 증가된 반면 고빈도 및 저빈도 전침 실험군 모두에서 양성대조군에 비해 유의성 있게 감소되었다 (Fig. 3).

4. 전침에 의한 lipase 생성 변화

급성 췌장염 백서 모델에서 전침의 치료효과를 알아보기 위하여 혈액 중 급성 췌장염의 임상적 지표물질 중 하나인 lipase의 수치를 측정하였다. lipase의 측정은 1,2-o-dilauryl-race-glycerol-3-glutaric acid-(6-methylresorufin) ester가 lipase에 의해 1,2-o-dilauryl-race-glycerol과 glutaric-(6-methylresorufin) ester로 분해되고, 알칼리성 용액상태에서 glutaric-(6-methylresorufin) ester는 glutamic acid와 methylresorufin으로 분해되므로, 이때 만들어지는 methylresorufin을 이용한 발색강도를 측정하여 비교하였다. Fig. 4에 나타난 바와 같이 급성 췌장염을 유발한 대조군에서 유의성 있게 lipase 수치가 증가되었으며, 저빈도와 고빈도 전침 자극에 의해 lipase 수치가 감소되는 것을 확인하였다 (Fig. 4).

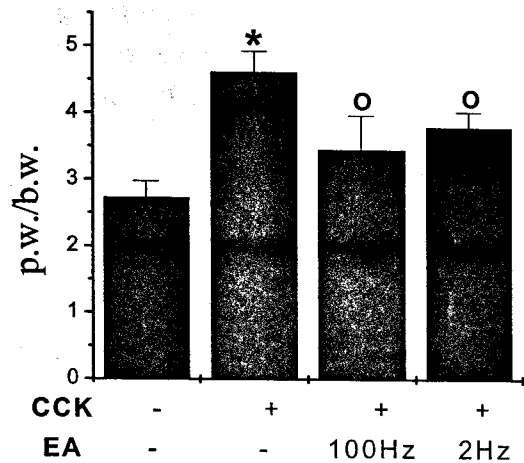


Fig. 1. Effect of electroacupuncture on the pancreatic weight/body weight ratio(p.w./b.w.) in cholecystikinin-octapeptide-induced acute pancreatitis. Groups were treated as indicated in the experimental protocol. Means \pm SEM for 5 animals are shown.
* P < 0.05 compared to normal group. ^oP < 0.05 compared to control group.

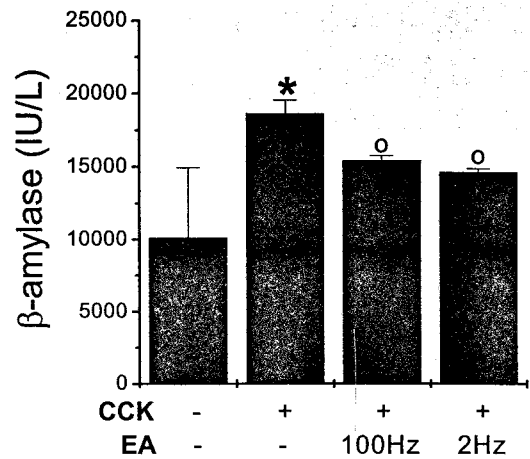


Fig. 3. Effect of electroacupuncture on β -amylase serum level (IU/L) in cholecystikinin-octapeptide-induced acute pancreatitis. Groups were treated as indicated in the experimental protocol. Means \pm SEM for 5 animals are shown.
* P < 0.05 compared to normal group. ^oP < 0.05 compared to control group.

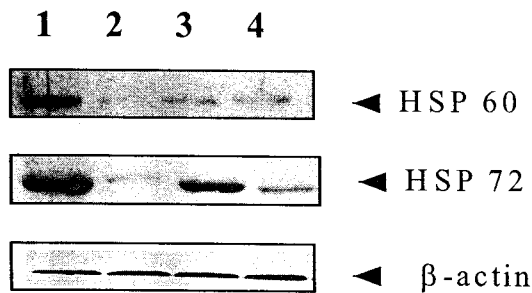


Fig. 2. Effect of electroacupuncture on HSP60 and HSP72 expression in cholecystikinin-octapeptide-induced acute pancreatitis. The figure depicts representative Western blot analyses of protein lysates (20 μ g/lane) from the pancreata of rats, showing the expression of HSP60 and HSP72. Lane 1, normal group; lane 2, control group; lane 3, acute pancreatitis+100 Hz electroacupuncture; lane 4, acute pancreatitis + 2 Hz electroacupuncture.
* HSP: heat shock protein

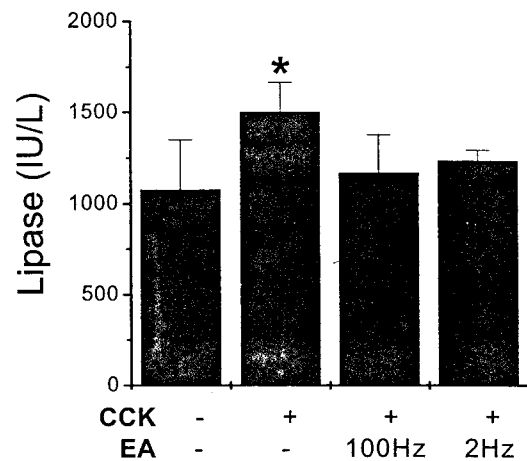


Fig. 4. Effect of electroacupuncture on lipase serum level (IU/L) in cholecystikinin-octapeptide-induced acute pancreatitis. Groups were treated as indicated in the experimental protocol. Means \pm SEM for 5 animals are shown.
* P < 0.05 compared to normal group.

5. 전침에 의한 IL-1 β 생성 변화

급성 췌장염 유발에 중요한 영향을 끼칠 수 있는 전 염증성 세포활성물질인 IL-1 β 분비량을 혈청 중에서 측정된 결과, CCK에 의해 유발된 급성 췌장염 군이 1.74 \pm 0.37ng/ml로 정상군의 0.12 \pm 0.13ng/ml 보다 10배 이상 증가하였다. 그러나 고빈도 전침 실험군과 저빈도 전침 실험군은 각각 0.32 \pm 0.16ng/ml, 0.98 \pm 0.70ng/ml로 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었다(Fig. 5).

6. 전침에 의한 TNF- α 생성 변화

또 하나의 급성 췌장염 유발에 중요한 영향을 끼칠 수 있는 전 염증성 세포활성물질인 TNF- α 분비량을 혈청 중에서 측정하였다. 그 결과, CCK에 의해 유발된 급성 췌장염 군은 50.50 \pm 9.29pg/ml로

정상군의 39.60 \pm 11.87pg/ml 분비량보다 증가되었으나, 고빈도 전침 실험군과 저빈도 전침 실험군에서는 각각 41.71 \pm 7.18pg/ml, 44.50 \pm 10.15pg/ml로 감소되는 경향을 보였다(Fig. 6).

7. 전침에 의한 혈액 중 생화학적 지표 물질 변화

전침과 스트레스와의 관계를 알아보기 위하여 전침 자극 후 실험동물의 혈액 중 생화학적 지표물질 (BUN, ALT, AST, LDH)의 변화를 분석하였다. Table 1에 나타난 바와 같이 ALT, AST 수치는 별다른 변화를 보이지 않은 반면 BUN과 LDH 수치는 대조군에 비해 고빈도 전침 자극군과 저빈도 전침 자극군에서 유의성 있게 감소되었다. 특히 LDH 수치는 저빈도 전침 자극군에서 현저하게 감소되었다(Table 1).

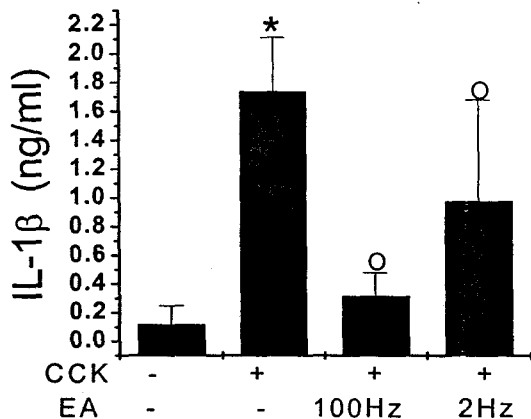


Fig. 5. Effect of electroacupuncture on IL-1 β secretion in cholecystokinin-octapeptide-induced acute pancreatitis. Rats were treated as indicated in the experimental protocol. Means \pm SEM for 5 animals are shown.

* P < 0.05 compared to normal group. ^oP < 0.05 compared to control group.

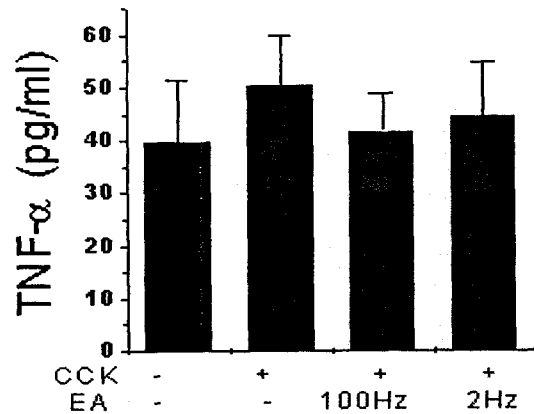


Fig. 6. Effect of electroacupuncture on TNF- α secretion in cholecystokinin-octapeptide-induced acute pancreatitis. Rats were treated as indicated in the experimental protocol. Means \pm SEM for 5 animals are shown.

Table 1. Effect of Electroacupuncture on Blood Biochemical Parameters in Rats.

	Normal	Control	Electroacupuncture(100Hz)	Electroacupuncture(2Hz)
ALT(IU/L)	49.67 \pm 1.53	31.33 \pm 3.79	38.67 \pm 0.58	42.00 \pm 2.65
AST(IU/L)	146.67 \pm 45.36	145.67 \pm 31.50	149.67 \pm 8.02	132.00 \pm 125.86
LDH(IU/L)	1383.67 \pm 243.82	2750.00 \pm 224.33*	1810.33 \pm 574.03 ^o	1484.00 \pm 56.00 ^o
BUN(mg/dL)	23.53 \pm 3.29	26.50 \pm 3.36*	14.93 \pm 1.88 ^o	15.97 \pm 0.57 ^o

Means \pm SEM for 5 animals are shown.

*P < 0.05 compared to normal group. ^oP < 0.05 compared to control group.

IV. 고찰

침치료는 전통적으로 다양한 질환의 치료에 이용되어왔으며 현대에 이르러서는 특히 염증 및 관절통에 우수한 임상적 효과가 보고되고 있다. 침의 진통효과를 평가하기 위한 동물의 행동적 모델뿐만 아니라, 최근에는 지속적인 염증성 통증모델로서 yeast, carrageenan, 그리고 Complete Freund's adjuvant (CFA)와 같은 염증성 약물을 투여한 동물모델에서 침의 효과에 대한 연구가 진행되고 있다²¹⁻²³⁾.

Zhang 등³⁾의 연구결과에 의하면 저빈도 전침 자극은 carrageenan 유도성 부종을 개선시켰으며, 동측 척수의 표층층(superficial laminae)에서 Fos의 expression에 대한 opioid 비의존성 억제효과를 발휘하였다.

급성췌장염은 복통을 주증상으로 호소하며, 그 원인은 술, 담석, 대사성 요소, 약물 등 다양하나, 발생 기전은 아직 밝혀지지 않고 있다⁷⁾.

CCK는 십이지장으로부터 분비되어 담낭수축과 췌장효소분비를 자극하는 것으로^{24,25)} 보고된 후 췌장염과의 연관성이 제시되고 있다. 실험적 연구에서 CCK 효현제인 cerulein이 급성 췌장염을 유도할 수 있으며²⁶⁻²⁷⁾, 외인성 CCK의 투여가 cerulein에 의해 유도된 췌장염을 악화시킨다²⁸⁾고 하였다. 또한 CCK 수용체 길항제는 실험적 급성 췌장염의 과정에 일정한 영향을 미칠 수 있다²⁷⁾.

본 연구에서 저자는 전침의 급성췌장염에 대한 치료효과를 확인하기 위하여 CCK로 유도된 급성 췌장염모델에서 족삼리 (ST36)에 자침한 후 그 침 바늘에 전기 자극기를 연결한 후 고빈도 (100Hz)와 저빈도 (2Hz)로 전침을 시행하였다.

족삼리(S36)는 위장질환 복통 소화장애 등에 널리 이용되는 경혈로서, 스트레스로 유도된 면역결핍과 신체장애의 치료에 효과적이며²⁹⁾, 이곳의 전침 자극은 방어체계를 활성화시키고³⁰⁾, 환자의 세포면역기능을 강화시킨다³¹⁾.

CCK로 유도된 급성 췌장염을 가진 백서의 췌장의 무게는 정상 백서의 췌장에 비해 1.5배정도 증가하는 것으로 알려져 있다³²⁾. 전침자극을 받은 실험군의 췌장무게는 전침 자극을 받지 않은 대조군의 췌장무게 보다 감소되어(Fig. 1), 백서 체중과의 비율이 유의성 있게 감소되었다. 특히 저빈도 전침 자극군보다는 고빈도 전침 자극군이 더욱 효과적이었

다. 이러한 결과는 전침을 급성췌장염 치료에 유용하게 활용할 수 있음을 의미한다.

Strowski³³⁾는 cerulein으로 유도된 급성 췌장염과 CCK에 의해 유도된 급성 췌장염에서 HSPs의 수치가 감소하는 것을 관찰하여, 췌장에서 HSPs의 수치가 낮을 경우 cerulein 유도성 급성 췌장염을 일으켰기 때문에 HSPs가 급성 췌장염을 억제하는 중요한 역할을 하는 인자임을 밝혔다. HSPs는 세포가 항상성을 유지하는데 아주 중요한 역할을 하며, 췌장을 포함한 여러 장기에서 다양한 스트레스에 의해 발현이 증가된다^{13-14,34)}. 이상의 결과를 고찰할 때, HSP 유도물질의 투여가 CCK 유도성 급성 췌장염에서 질환의 심각도를 감소시키리라고 예상할 수 있다. 그러나 HSPs는 대부분 유해한 상황 하에서 유도된다. 그러므로 HSPs의 생성을 부작용을 일으키지 않고 증가시키는 것이 관건이다³³⁾. 본 연구에서 5일 동안 과도한 양의 CCK 주입에 의해 유도된 급성 췌장염의 췌장에서 HSP60과 HSP72의 발현 변화를 조사한 결과, 전침 자극을 준 군은 대조군에 비해 HSP60과 HSP72의 발현이 현저히 증가됨을 관찰하였다. 특히 HSP72의 경우 고빈도 전침 (100Hz)에서 현저한 증가를 확인하였다. 향후 HSP60과 HSP72의 발현 변화 기전 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

또한 췌장염의 혈중 지표라 할 수 있는 β -amylase는 급성 췌장염이 발생한 후 2-12시간 내에 수치가 증가된다. 그리고 그 수치는 보통 3-5일이 지나면 정상으로 돌아가게 된다³⁵⁾. 또한 그 민감성도 제한적이어서 고지혈증 환자의 경우와 복강내 염증 환자의 경우는 정확한 값을 측정할 수 없다. 그러나 혈중 β -amylase는 급성 췌장염에 있어 질환의 진행 강도에 무관하게 일반적으로 증가하는 지표로 알려져 있다³⁶⁾. 본 실험에서도 역시 췌장염을 유발시킨 대조군에서 정상 대조군에서보다 10배가 넘는 증가를 보였으나, 고빈도와 저빈도 전침 자극군에서 모두 유의성 있는 억제효과를 나타내었다. 이는 전침 자극은 췌장염에 의해 증가될 수 있는 β -amylase 수치를 줄일 수 있음을 암시한다.

혈중 lipase는 대부분이 췌장의 acinar 세포에서 분비되며, 급성췌장염이 일어나면 4-8시간동안 lipase 수치가 증가하고, 약 24시간 후에 최고수치에 이르게 된다. lipase의 비정상적인 증가는 8일에서 14일간 유지되어, 비정상적 증가 수치가 유지되는 기간이 β -amylase에 비해 길기 때문에 급성 췌장염

에 대한 지표로서 더욱 유효하다는 주장이 있다³⁷⁾. 본 실험에서 lipase는 β -amylase와 같은 양상으로 급성 췌장염을 유발시킨 대조군에서 증가하였으며, 전침으로 자극한 그룹에서는 억제되었다.

인체 기관의 기능장애(organic dysfunction)를 유발하는 체계적 염증반응(systemic inflammatory response)은 전 염증성 세포활성물질(pro-inflammatory cytokine)의 분비에 의해 매개된다. 주요한 전 염증성 세포활성물질인 IL-1 β 는 prostaglandin E2 생성 유도에 의해 발열을 유도하여 골수에서 호중구 유도를 촉진하며, 염증부위로 이동케 하여 lysosomal enzyme을 분비한다. 또한 호산구와 호중구를 자극하여 inflammation mediator를 분비하며 산화질소 형성을 유도한다. TNF- α 는 낮은 농도로 IL-1 β 를 유도할 수 있으며, 호중구의 축적과 활성을 촉진하고, superoxide 형성에 관여한다.

실험 및 임상적으로 급성 췌장염에서 전 염증성 세포활성 물질인 TNF- α 과 IL-1 β 는 기관의 기능장애를 매개하는데 중요한 역할을 한다. 급성췌장염을 일으킨 다양한 동물모델에서 이러한 세포활성물질의 혈청수준의 증가가 보고되었으며, 최근 실험에서 전 염증성 세포활성물질의 억제가 췌장염의 완화에 직접 관련되어 있음을 예상할 수 있다. 본 연구에서 급성 췌장염의 유발로 인해 증가된 IL-1 β 와 TNF- α 의 양이 전침으로 자극을 준 경우 감소된 결과는 특정 면역세포의 활성조절 효과에 의한 것일 것으로 생각된다.

마지막으로 전침 자극으로 인한 실험동물의 스트레스에 의한 신체 변화가 실험 결과에 미칠 수 있는 영향을 알아보기 위하여 혈중 스트레스관련 생화학적 지표물질인 BUN, ALT, AST, 그리고 LDH 수준 변화를 분석한 결과, 간기능 변화를 예측할 수 있는 지표인 ALT와 AST의 수치는 실험군간 차이는 관찰되지 않았다. 오히려 신장 기능을 평가할 수 있는 BUN과 근육의 손상 정도를 암시하는 LDH 수치는 전침 치료군에서 대조군에 비해 유의하게 감소되어 전침 자극에 의한 효과를 확인할 수 있었다.

결론적으로, 본 연구에서는 전침이 HSP60과 HSP72의 발현증가, β -amylase, lipase의 억제, IL-1 β 와 TNF- α 분비 감소를 나타낸 것을 확인하므로써 급성 췌장염 치료에 전침을 유용하게 활용할 수 있는 근거를 실험동물모델에서 확인하였다. 그러나 이에 대한 계속적인 더욱 상세한 기전 연구 등이 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구에서는 급성 췌장염에 대한 전침의 효과를 알아보기 위하여 CCK로 유도된 급성 췌장염 동물 모델에서 저주파와 고주파의 전침을 시행한 후 췌장의 무게비율, HSP60과 HSP72의 발현량, β -amylase와 lipase의 분비량 및 IL-1 β 와 TNF- α 분비량 변화를 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 전침 자극군은 CCK로 유도된 양성 대조군에 비해 전체 몸무게에 대한 췌장무게의 비율을 유의성 있게 감소시켰다.
2. 전침 자극군은 CCK로 유도된 양성 대조군에 비해 췌장의 HSP60과 HSP72의 발현량을 유의성 있게 증가시켰다.
3. 전침 자극군은 CCK로 유도된 양성 대조군에 비해 β -amylase의 생성을 유의성 있게 감소시켰다.
4. 전침 자극군은 CCK로 유도된 양성 대조군에 비해 lipase의 생성을 감소시켰다.
5. 전침 자극군은 CCK로 유도된 양성 대조군에 비해 IL-1 β 와 TNF- α 의 생성을 유의성 있게 감소시켰다.

VI. 참고문헌

1. 楊維傑 編著 : 黃帝內經靈樞譯解. 서울, 成輔社. 1980 ; pp. 58-67, 75-83.
2. Song JJ, Park GY, Kim KJ. 침자가 만성요통의 혈장 내 β -endorphin, ACTH 및 Cortisol 함량에 미치는 영향. The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion. 2003 ; 20 : 117-130.
3. Zhang SP, Zhang JS, Yung KK, Zhang HQ. Non-opioid-dependent anti-inflammatory effects of low frequency electroacupuncture. Brain Res Bull. 2004 ; 15 : 327-334.
4. Kasahara T, Amemiya M, Wu Y, Oguchi K. Involvement of central opioidergic and

- nonopioidergic neuroendocrine systems in the suppressive effect of acupuncture on delayed type hypersensitivity in mice. *Int J Immunopharmacol.* 1993 ; 15(4) : 501-508.
5. 金甲麗. 鹿茸水鍼이 白鼠의 副腎皮質機能不全에 미치는 影響. 경희한의대석사학위논문. 1987.
 6. 金晟煥 編 : 最新內科藥物療法, 서울, 書苑堂, pp. 383-388, 1981.
 7. 해리슨 번역 편찬위원회 : HARRISON'S 내과학, 서울, 도서출판정담. 1997 ; 1636-1643.
 8. Lindquist S. The heat-shock response. *Annu Rev Biochem.* 1986 ; 55 : 1151-1191.
 9. Welch WJ. Mammalian stress response : cell physiology ; structure/function of stress proteins ; and implications for medicine and disease. *Physiol Rev.* 1992 ; 72 : 1063-1081.
 10. Otaka M, Itoh H, Kuwabara T, Zeniya A, Fujimori S, Otani S, Tashima Y, Masamune O. Induction of heat shock protein and prevention of cerulein-induced pancreatitis by water-immersion stress in rats. *Int J Biochem.* 1994 ; 26 : 805-811.
 11. Otaka M, Okuyama A, Otani S, Jin M, Okayama A, Itoh S, Iwabuchi A, Sasahara H, Itoh H, Tashima Y, Komatsu M, Masamune O. Differential induction of HSP60 and HSP72 by different stress situations in rats. *Dig Dis Sci.* 1997 ; 42 : 1473-1479.
 12. Wagner AC, Weber H, Jonas L, Nizze H, Strowski M, Fiedler F, Printz H, Steffen H, Goke B. Hyperthermia induces heat shock protein expression and protection against cerulein-induced pancreatitis in rats. *Gastroenterol.* 1996 ; 111 : 1333-1342.
 13. Grise K, Kim F, McFadden D. Hyperthermia induces heat-shock protein expression ; reduces pancreatic injury ; and improves survival in necrotizing pancreatitis. *Pancreas.* 2000 ; 21 : 120-125.
 14. Lee HS, Bhagat L, Frossard JL, Hietaranta A, Singh VP, Steer ML, Saluja AK. Water immersion stress induces heat shock protein 60 expression and protects against pancreatitis in rats. *Gastroenterol.* 2000 ; 119 : 220-229.
 15. Rakonczay Z. Jr, Takacs T, Mandi Y, Ivanyi B, Varga I, Papai G, Boros I, Lonovics J. Water immersion pretreatment decreases pro-inflammatory cytokine production in cholecystokinin-octapeptide-induced acute pancreatitis in rats : possible role of HSP72. *Int J Hyperthermia.* 2001 ; 17 : 520-535.
 16. Frossard JL, Pastor C.M, Hadengue A. Effect of hyperthermia on NF- κ B binding activity in cerulein-induced acute pancreatitis. *Am J Physiol. Gastrointest Liver Physiol.* 2001 ; 280 : G1157-G1162.
 17. Vissers RJ, Abu-Laban RB, McHugh DF. Amylase and lipase in the emergency department evaluation of acute pancreatitis. *J Emerg Med.* 1999 ; 17 : 1027-1037.
 18. Norman J, Franz M, Rikker A, Fower R. Rapid elevation of pro-inflammatory cytokines during acute pancreatitis and their origination within the pancreas. *Surg. Forum* 1994 ; XLV : 148.
 19. Norman J, Fink G, Franz M. Acute pancreatitis induces intrapancreatic tumor necrosis factor gene expression. *Arch. Surg.* 1995 ; 130 : 966.
 20. Fink G, Norman J. Specific changes in the pancreatic expression of the interleukin-1 family of genes during experimental acute pancreatitis. *Cytokine.* 1997 ; 12 : 216-221.
 21. Kayser V, Guilbaud G. Local and remote modifications of nociceptive sensitivity during carrageenin-induced inflammation in the rat. *Pain.* 1987 ; 28 : 99-107.
 22. Larson AA, Brown DR, El-Atrash S, Walser MM. Pain threshold changes in adjuvant-induced inflammation : a possible model of chronic pain in the mouse. *Pharmacol Biochem Behav.* 1986 ; 24 : 49-53.
 23. Winter, Flataker. Reaction thresholds to pressure in edematous hindpaws of rats and responses to analgesic drugs. *J Pharmacol Exp Ther.* 1965 ; 150 : 165-171.

24. Thomson JC, Render HR, Ramus NI, Villar HV, Rayford PL. Cholecystokinin metabolism in man and dogs. *Ann Surg.* 1975 ; 182 : 496-504.
25. Grace PA, Poston GJ, Williamson RCN. Biliary motility. *Gut.* 1990 ; 31 : 571-582.
26. Plusczyk T, Westermann S, Rathgeb D, Feifel S. Acute pancreatitis in rats : effects of sodium-taurocholate, CCK-8 and Sec on pancreatic microcirculation. *Am J Physiol.* 1997 ; 272 : 310-320.
27. Taniguchi H, Yomota E, Kume E, Shikano T, Endo T, Nagasaki M. Effect of T-0632, a cholecystokinin A receptor antagonist on experimental acute pancreatitis. *Jpn J Pharmacol.* 1997 ; 73 : 105-112.
28. Evander A, Ishe I, Lundquist I. Influence of hormonal stimulation by caerulein in acute experimental pancreatitis in the rat. *Eur Surg Res.* 1981 ; 13 : 257-268.
29. Vasilenko A.M, Kirilina E.A, Sarybaeva D.V. Prevention and correction of stress-induced immunodeficiency by atrial electroacupuncture. *Patol. Fiziol. Eksp. Ter.* 1989 : 21-24.
30. Rogers P.A, Schoen A.M, Limehouse J. Acupuncture for immune-mediated disorders. Literature review and clinical applications. *Probl. Vet. Med.* 1992 ; 4 : 162-193.
31. Wu B, Zhou R.X, Zhou M.S. Effect of acupuncture on interleukin-2 level and NK cell immunoactivity of peripheral blood of malignant tumor patients. *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih.* 1994 ; 14 : 537-539.
32. Zoltan Rakonczay Jr, Ern Duda. The anti-inflammatory effect of methylprednisolone occurs down-stream of nuclear factor-B DNA binding in acute pancreatitis. *Eur J Pharmacol.* 2003 ; 464(2-3) : 217-227.
33. Zoltan Rakonczay Jr, Bela Ivanyi. Nontoxic heat shock protein coinducer BRX-220 protects against acute pancreatitis in rats. *Free Radical Biol and Med.* 2002 ; 32 : 1283-1292.
34. Dobosz M, Hac S, Wajda Z. Does nitric oxide protect from microcirculatory disturbances in experimental acute pancreatitis in rats. *Int J Microcirc Clin Exp.* 1996 ; 16 : 221.
35. Nagy I, Pap A, Varro V. Time-course of changes in pancreatic size and enzyme composition in rats during starvation. *Int J Pancreatol.* 1989 ; 5 : 35-45.
36. Tietz NW, Shuey DF. Lipase in serum-the elusive enzyme : an overview. *Clin Chem.* 1993 ; 39 : 746-756.
37. Joseph S, Scott T. Laboratory Diagnostic Tests in Acute Pancreatitis. *J Clin Gastroenterol.* 2002 ; 34 : 459-462.