

원저

## 전기침이 면역증진에 미치는 효과

강세영 · 정은우 · 이상관 · 성강경

원광대학교 한의과대학 내과학교실

### Abstract

## Effects of Electroacupuncture on Immune Function

Kang Se-young, Jeong Eun-woo, Lee Sang-kwan and Sung Kang-keyng

Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

Electroacupuncture(EA) is known to affect various autonomic functions such as blood pressure regulation, immune modulation and the improvement of disorders concerning autonomic functions. The aim of the present study was to establish whether EA has an immune-enhancing effect. ICR mice weighing 20 to 25g were divided into four groups: Group I (n=6), blank; Group II(n=6), control; Group III(Zusanli, n=6), low frequency-EA(10Hz of electrical stimulation), and Group IV(Zusanli, n=6), high frequency-EA(100Hz of electrical stimulation). For this study, we investigated expressions of spleen heat shock protein (HSP)70, HSP90 and secretions of cytokines. A Forced Swimming Test(FST) was performed as a model of activity test in mice. After three days of the FST, 10Hz EA(114.8±7.27s) and 100Hz EA(147.5±1.29s) immobility time significantly decreased compared with the control group(157.2±1.48s). After seven days, 10Hz EA(124±1s) and 100Hz EA(141±4.24s) also significantly decreased immobility time compared with the control group(168±7.93s). 10Hz EA and 100Hz EA increased the expression of HSP70 but did not change that of HSP90. 100Hz EA increased secretions of IL-6 and IL-12 compared with the control group however, 10Hz EA failed to change those of IL-6 and IL-12. The present results suggest that EA may be useful for down-regulated immune diseases.

*Key words* : Electroacupuncture(EA), Heat Shock Protein(HSP), Cytokines, Forced Swimming Test(FST)

\* 본 연구는 과학기술부 SRC/ERC프로그램(SRC/ERC program of MOST/KOSEF(R11-2005-014)에 의하여 지원되었음

\* 본 연구는 2007원광대학교 교내연구비지원에 의하여 수행되었음

· 접수 : 2007년 10월 11일 · 수정 : 2007년 11월 24일 · 채택 : 2007년 11월 25일

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

Tel. 062-670-6412 E-mail : sungkk@wonkwang.ac.kr

## I. 서론

침은 한의학에서 알레르기나 천식과 같은 면역질환을 포함한 다양한 질병에 대한 치료 도구로서 오랫동안 사용되어 왔다<sup>1)</sup>. 최근 암 치료에 있어 침의 면역증진 효과에 대한 보고들이 동서의학 영역에서 활기차게 연구 수행 되고 있다<sup>2,3)</sup>. 현재까지의 보고에 의하면 침은 화학요법과 같은 항암에 유익한 효과를 제공하면서 악성종양을 가진 환자들의 세포면역기능을 향상시킬 수 있으며<sup>4)</sup>. 또한 족삼리(ST<sub>36</sub>)와 난미혈(Extra<sub>37</sub>)에 침자극은 정상쥐들에서 말초의 인터루킨-2(IL-2) 활동을 증진시켜주고 정상에서 벗어난 백혈구 패턴을 자율신경계를 경유하여 잠재적으로 정상화 시켰다<sup>5-7)</sup>. 더욱이, 족삼리(ST<sub>36</sub>)에 대한 전침은 쥐의 비장에서 자연살해세포(natural killer cell)의 활동과 인터페론-감마(interferon- $\gamma$ )의 생산을 활성화시켰다.

본 연구의 목적은 전침이 면역증진효과를 가지고 있는지의 여부를 평가하는 것이다. 이 연구를 위해 ICR 쥐들의 강제수영테스트(FST)모델을 사용했으며 비장의 열충격단백질인 HSP70, HSP90과 세포활성물질(cytokines) 분비의 발현 양상을 조사하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 시약

아비딘항원접합제(Avidin-peroxidase)와 2'-AZINO-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) tablets substrate(ABTS)는 Sigma사로부터 구매하였다. 항-열충격단백질70 항원(Anti-HSP70 antibodies)과 항-열충격단백질90 항원(Anti-HSP90 antibodies)는 Stressgen(British Columbia, Canada)으로부터 구매하였다. 항마우스인터루킨-6(Anti-mouse IL-6)과 항마우스인터루킨-12(anti-mouse IL-12) antibodies는 R&D Systems(Minneapolis, MN, USA)로부터 구매하였다.

### 2. 동물

ICR 쥐(6주령)의 음성 정품을 Charles River(Korea)로부터 구매하였다. 그 쥐들은 층류방(laminar air-flow room)에서 한 우리(cage) 당 5-10마리씩 사육하였고

온도는 22±1℃, 습도는 55±10%로 유지하였다.

### 3. 실험그룹과 전침자극

실험동물들은 네 그룹으로 나누었는데, 첫 번째 군(6마리), 공시험(空試驗); 두 번째 군(6마리), 대조군; 세 번째 군(족삼리, 6마리), 저주파전침(10Hz의 전기자극); 네 번째 군(족삼리, n=6), 고주파전침(100Hz의 전기자극)군이다. 족삼리(ST<sub>36</sub>)의 혈위는 경골의 앞쪽 결절(the anterior tubercle of the tibia)의 바깥쪽 5mm 아래에 위치한다. 전기 자극은 두 개의 침을 통해서 족삼리(ST<sub>36</sub>)에 전달되었으며, 침(길이 3.0cm; 두께 0.20mm)은 피부에 일측성으로 각각 5mm 간격으로 수직으로 자침되었고, 자침 깊이는 약 5mm였다. 전기전압은 3-5V, 지속시간은 0.25ms였으며 주파수는 각각 10Hz와 100Hz였고 전침자극기로부터 전달되었다. 자극의 강도는 적절한 근육의 수축을 야기할 수 있는 최소 전압으로 결정했으며 전침자극은 20분 동안 제공되었다. 전체 그룹에 걸친 스트레스를 표준화하기 위해서 대조군에 속한 쥐들을 20분 동안 전기 자극 없이 아크릴 용기 안에 가두었다. 침 자극은 7일 동안 매일 반복해서 시행하였다<sup>8)</sup>.

### 4. 강제수영시험(FST)

20-25g 무게의 ICR 쥐가 이번 실험에서 사용되었다. 처음에 쥐들을 실린더에 넣자 쥐들은 출구를 찾기 위해 활기차게 수영하였으나 2-3분이 지나자 쥐들의 부동 상태의 기간이 길어졌으며 쥐들은 수면 위로 머리만 내어놓는 상태로 수동적으로 떠있는 상태를 유지하였다<sup>9)</sup>. 6분 동안 강제수영시험을 시행하고 쥐들의 부동시간을 측정하였다. 기구는 두 개의 플락시글라스 실린더(Plexiglas cylinders)(높이 : 25cm, 직경 : 10cm)로 구성하였고 23-25℃의 물(10cm 높이)로 채워진 매크로론 우리(Makrolon cage)를 나란히 놓았다.

2분 간격을 두고 4분 동안 전체 부동시간을 측정하였다. 각각의 쥐가 발버둥치는 것을 그만두었을 때(수면 위로 머리를 내놓기 위해 필요한 동작만을 하면서 물 속에서 움직이지 않은 채 떠있는 상태)를 부동상태라고 간주하였다<sup>10)</sup>.

### 5. Western blotting

HSP70과 HSP90의 Western blot 분석은 비장의 균

질액의 세포질 분류를 위해 수행하였다. 30마이크로그램의 단백질이 각 통로마다 갖추어졌으며 샘플은 Laemmli의 방법을 사용하여 10% SDS-PAGE에 전기이동시켰다<sup>11)</sup>. 그 교화체(gel)는 Western blot 분석을 위해 동일한 단백질의 부하를 표시하기 위해 Coomassie brilliant blue로 착색하였거나, 300mA로 2시간 동안 니트로셀룰로스 막(nitrocellulose membrane)으로 이동시켰다. 세포막들은 1시간 동안 5% 탈지분유로 차단하고 항-열충격단백질70 항원(Anti-HSP70 antibodies)과 항-열충격단백질90 항원(Anti-HSP90 antibodies)을 배양하였다. 인산염완충식염수-트윈-20(PBS-Tween-20)으로 세 차례 씻어낸 후에 30분 동안 이차항체(secondary antibody)를 배양하였으며, 권고된 방법인(Amersham Corp., Newark, NJ) 향상된 화학발광검출시스템으로 항체측이성 단백질을 시각화하였다.

## 6. 효소와 연관된 면역흡착제 분석(ELISA)

인터Sandwich ELISA for IL-6 and IL-12는 두개의 96-well로 운반되었다. ELISA 플레이트(Nunc, Denmark)에는 pH 7.4로 맞춰진 1.0 $\mu$ g/ml농도의 인산염완충식염수(PBS)를 넣고 항마우스인터루킨-6(anti-mouse IL-6)과 항마우스인터루킨-6(anti-mouse IL-12) 단일 클론항체를 100 $\mu$ l씩 주입한 상태로 4 $^{\circ}$ C로 밤새 배양되었다. 배양이 끝난 후 0.05% tween-20를 포함한 PBS로 세척하였고 1%의 소혈청 알부민(Bovine Serum Albumin ; BSA), 5% 자당(蔗糖 ; sucrose)과 0.05% 삼질소나트륨( $\text{NaN}_3$ )을 포함한 인산염완충식염수(PBS)로 1시간 동안 차단하였다. 추가세척 후에 샘플 또는 각 지표들을 추가하였고 2시간 동안 37 $^{\circ}$ C로 배양하였다. 그 후 그 well을 세척하고 각각 0.2 $\mu$ g/ml의 항마우스인터루킨-6과 항마우스인터루킨-12를 추

가하고 다시 2시간 동안 37 $^{\circ}$ C로 배양하였다. Well을 다시 세척하고 ABTS 기질을 추가하였다. 색상의 변화는 자동화된 micro plate ELISA reader를 사용하여 405nm에서 측정하였다. 표준커브는 일련의 회석과정에서 재조합형의 인터루킨-6(IL-6)과 인터루킨-12(IL-12)를 사용하는 각각의 분석으로 이어졌다.

## 7. 통계분석

결과는 평균 $\pm$ S.E.M로써 나타났다. 실험그룹의 차이는 평방편차분석을 사용하여 평가하였으며 통계의 유의성은  $P<0.05$ 로 설정하였다.

## III. 실험결과

### 1. 3일 동안의 전침(EA) 처치가 강제수영시험(FST)에 미치는 효과

쥐에게 강제수영시험을 시행하였으며 3일 동안 전침자극을 한 후에 부동시간을 측정하였다. 10Hz 전침(EA)을 시행한 경우(114.8 $\pm$ 7.27s)와 100Hz 전침(EA)을 시행한 경우(147.5 $\pm$ 1.29s)에서 대조군(157.2 $\pm$ 1.48s)과 비교했을 때 명백히 감소된 부동시간을 보였다(Fig. 1).

### 2. 7일 동안의 전침(EA) 처치가 강제수영시험(FST)에 미치는 효과

쥐에게 강제수영시험을 한 번 더 시행하였다. 7일 동안 전침자극을 한 후에 부동시간을 측정하였다. 10Hz 전침(EA)을 시행한 경우(124 $\pm$ 1s)와 100Hz 전침(EA)을 시행한 경우(141 $\pm$ 4.24s)는 대조군(168 $\pm$ 7.93s)과 비교했

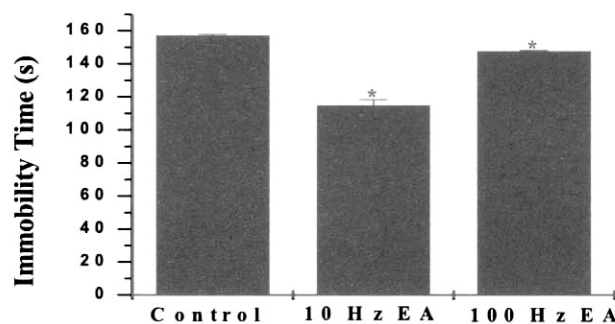


Fig. 1. Effect of EA on FST in mice(3rd day). Groups were treated as indicated in the experimental protocol Mean $\pm$ S.E.M for 6 animals are shown. \*  $P<0.05$  : significant difference vs. control group.

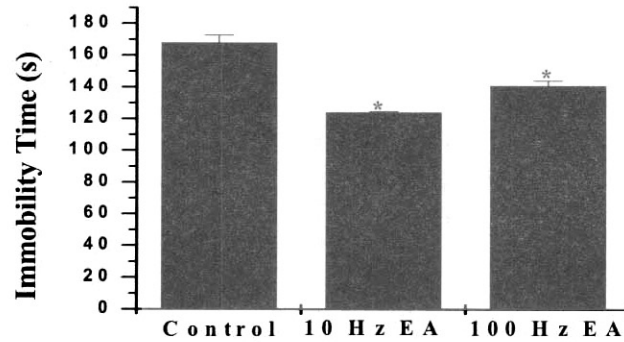


Fig. 2. Effect of EA on FST in mice(7th day). Groups were treated as indicated in the experimental protocol Mean±S.E.M for 6 animals are shown. \*  $P < 0.05$  : significant difference vs. control group.

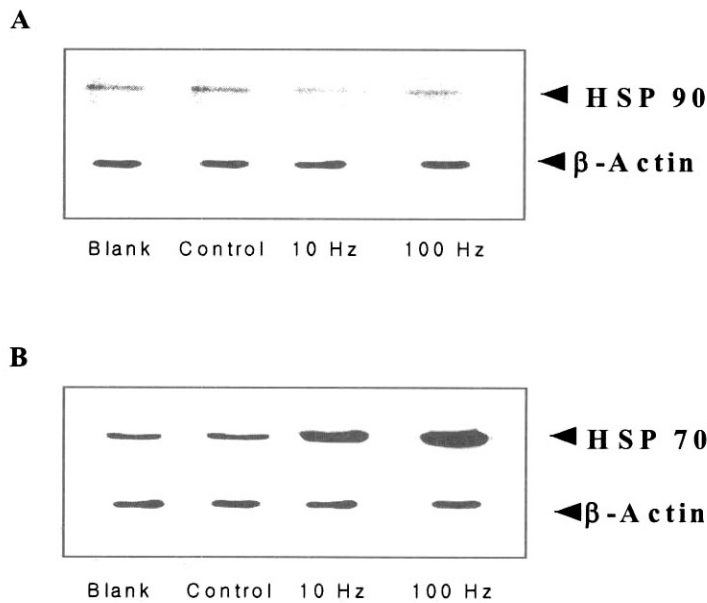


Fig. 3. Effect of EA on HSP70 and HSP90 expression  
Representative Western blot analyses of protein lysates(30µg/lane) from the spleen of mouse show the expression of HSP90(A) and HSP70(B).

을 때 명백히 감소된 부동시간을 보였다(Fig. 2).

### 3. 전침(EA) 처치가 HSP70과 HSP90 발현에 미치는 영향

비장에서 HSP70과 HSP90 발현을 측정하였다. Fig. 3에서 보이듯 10Hz 전침(EA)을 시행한 경우와 100Hz 전침(EA)을 시행한 경우는 HSP70의 발현을 증가시키지만 대조군과 비교했을 때 HSP90을 변화시키진 못했다.(Fig. 3).

### 4. 전침(EA) 처치가 인터루킨-6(IL-6) 분비에 미치는 영향

쥐의 혈청에서 인터루킨-6(IL-6)의 분비를 조사하였다. 대조군(322.5±10.6pg/mL)과 비교했을 때 100Hz 전침(EA)을 시행한 경우에서 인터루킨-6(IL-6)(646.6±55pg/mL)의 분비가 명확히 증가하였다. 그러나 10Hz 전침(EA)을 시행한 경우에는 변화가 없었다(Fig. 4).

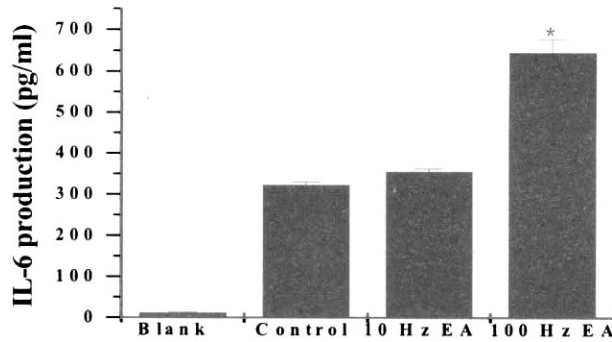


Fig. 4. Effect of EA on IL-6 secretion in mice serum

Mice were electroacupunctured each day for a period of 7 days. Mean±S.E.M for 6 animals are shown. \*  $P < 0.05$  : significant difference vs. control group.

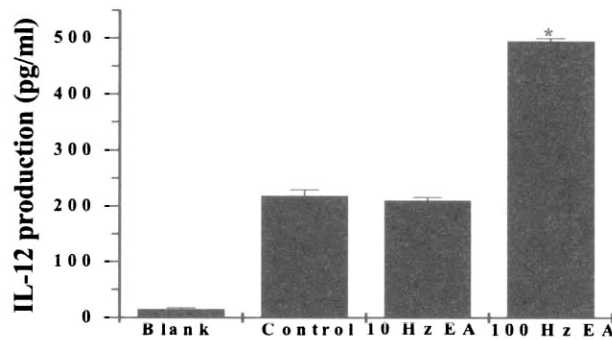


Fig. 5. Effect of EA on IL-12 secretion in mice serum

Mice were electroacupunctured each day for a period of 7 days. Mean±S.E.M for 6 animals are shown. \*  $P < 0.05$  : significant difference vs. control group.

### 5. 전침(EA) 처치가 인터루킨-12(IL-12) 분비에 미치는 영향

쥐의 혈청에서 인터루킨-12(IL-12)의 분비를 조사하였다. 대조군( $218.3 \pm 18.9 \text{ pg/mL}$ )과 비교했을 때 100Hz 전침(EA)을 시행한 경우에서 IL-12( $495 \pm 7.1 \text{ pg/mL}$ )의 분비가 명확히 증가하였다. 그러나 10Hz 전침(EA)을 시행한 경우에는 변화가 없었다(Fig. 5).

## IV. 고찰

일반적으로, 강제수영시험(FST)은 설치류에서 항 우울처치의 효과를 예측하는 행동학적 검사이다<sup>12)</sup>. 이 검사는 실험대상이 깊은 물탱크에서 빠져나올 수 없는 상황일 때 발생하는 무기력의 반응으로 부동현상을 유도한다. 이 틀에서, 쥐는 연장된 기간 동안 탱크에 위

치하게 된다. 초기에 격렬하게 수영을 하는 시기 이후에, 동물은 우울함과 유사한 반응으로 여겨지는 부동행동을 나타낸다. 강제수영시험(FST)은 어떤 인자가 항 피로효과와 면역증강효과를 가지는지 검사하는데 사용된다<sup>10,13-15)</sup>.

이 연구에서, 3일, 7일 동안 전침 자극 후 강제수영시험(FST)에서 전침을 시행한 군이 대조군에 비해 부동시간이 감소했음을 보여주었다. 열충격단백질들(heat shock proteins ; HSPs)은 구조적으로 같은 종류이며 스트레스상황(유도형태)에서 발현된다. 추가적으로 열 자극과, 환경적(자외선 또는 중금속), 병리적(감염 또는 악성종양), 생리적(성장인자 또는 세포분화) 자극은 스트레스 반응으로 알려진 열충격단백질(HSP) 합성을 증가시킨다<sup>16,17)</sup>.

세포내 분자로서의 기능 외에도 세포의 열충격단백질70(HSP70)은 강력한 세포활성물질(cytokine)로 작용하여, 면역세포의 기능에 영향을 준다<sup>18)</sup>. 박테리아 열충격단백질(Bacterial HSPs), 특히 열충격단백질70(HSP

70)은 항체 생산과 T-세포 활성화를 유발하는 높은 면역생산능력을 가지고 있다. 또한 박테리아 열충격단백질70(Bacterial HSP70)에 대항하는 항체와 T-세포는 교차반응(cross-reactivity)때문에 포유동물열충격단백질70(mammalian HSP70)을 인지한다<sup>19)</sup>. 열충격단백질70(HSP70)의 항체와 T-세포는 조직을 손상시켜 염증반응을 일으킨다<sup>20)</sup>. 또한 열충격단백질70(HSP70)은 제1형 당뇨<sup>21)</sup>, 크론병<sup>22)</sup>, 죽상동맥경화증<sup>23)</sup>, 만성 연소자성 관절염<sup>24)</sup>와 같은 자가면역질환과 염증상태의 병리현상과 관련되어 왔다. 열충격단백질90(HSP90)은 세포사멸의 중요한 조절단백질의 활동에 관여하며 이 조절자와의 관계를 통하여 종양세포의 생존에 영향을 미치는 것으로 알려져 왔다. 세포증식과 세포죽음에 대한 조절에 모두 관여하는 survivin은 인간 종양형세포에서 과대발현되며 열충격단백질90(HSP90)과 동반된다. survivin과 열충격단백질90(HSP90) 사이의 밀접한 관계는 종양세포가 그들의 항고사 역치를 높이고 증식을 촉진하는데 영향을 미친다고 알려져 있다<sup>25)</sup>.

열충격단백질(HSPs)은 또한 항원 전달, 교차전달, 그리고 종양면역에 중요한 역할을 한다<sup>26)</sup>. 열충격단백질 제시(HSP preparation)는 종양괴사인자- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), 인터루킨-1(IL-1), 인터루킨-6(IL-6), 인터루킨-12(IL-12)와 같은 염증유발성 세포활성물질(proinflammatory cytokines)의 생산과 단핵구, 대식세포, 수지상세포에 의한 산화질소(nitric oxide ; NO) 와 C-C 케모카인(C-C chemokines)의 분비를 유발하는 것으로 알려져 왔다<sup>27)</sup>. 현재 연구에서 10Hz 전침을 시행한 경우와 100Hz 전침을 시행한 경우는 비장으로부터 열충격단백질70(HSP70)의 발현을 증가시키나, 대조군과 비교하여 변화는 없었다. 또한 100Hz 전침을 시행한 경우는 인터루킨-6(IL-6)과 인터루킨-12(IL-12)의 분비를 증가시킨다. 이와 같은 결과는 전침이 면역반응을 도출하고 항암 면역기능을 증진시키는 잠재적 도구가 될 수 있다는 것을 암시한다<sup>18)</sup>.

그러나 현재의 발견을 뒷받침하기 위해서는 전침의 면역 능력 향상에 관여하는 명확하고 구체적인 기전의 연구가 필수적이다. 결론적으로 전침은 열충격단백질70(HSP70)의 발현을 증가시키고, 100Hz 전침을 시행한 경우 인터루킨-6(IL-6)과 인터루킨-12(IL-12)의 분비를 증가시켰으며, 또한 전침은 강제수영시험(FST)를 실시하는 동안 부동시간을 감소시켰다. 그러므로 이 논문의 결과를 볼 때 전침이 면역이 저하된 질환에 유용할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

본 연구에서 전침의 면역증가 효과를 평가하기 위하여, 비장의 열충격단백질70(HSP70), 열충격단백질90(HSP90)의 발현과 강제수영시험(FST)을 시행한 쥐의 세포활성물질(cytokines)의 분비를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 10Hz 전침군과 100Hz전침군은 대조군과 비교하여 3-7일 동안 전침 자극을 받은 후 시행한 강제수영시험(FST) 동안에 부동시간은 감소하였다.
2. 10Hz 전침군과 100Hz 전침군은 열충격단백질70(HSP70) 발현을 증가시켰으나 대조군과 비교하여 변화는 없었다.
3. 100Hz 전침군은 대조군과 비교하여 인터루킨-6(IL-6)의 분비를 명확히 증가시켰으나, 10Hz 전침군에서는 변화가 없었다.
4. 100Hz 전침군은 대조군과 비교하여 인터루킨-12(IL-12)의 분비를 증가시켰다. 그러나 10Hz 전침군에서는 변화가 없었다.

## VI. 참고문헌

1. Son YS, Park HJ, Kwon OB, Jung SC, Shin HC, Lim S. Antipyretic effects of acupuncture on the lipopolysaccharide-induced fever and expression of interleukin-6 and interleukin-1 $\beta$  mRNAs in the hypothalamus of rats. *Neurosci Lett.* 2002 Feb ; 319(1) : 45-8.
2. Rogers PA, Schoen AM, Limehouse J. Acupuncture for immune-mediated disorders. Literature review and clinical applications. *Probl Vet Med.* 1992 Mar ; 4(1) : 162-93.
3. Wu B, Zhou RX, Zhou MS. Effect of acupuncture on immunomodulation in patients with malignant tumors. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* 1996 Mar ; 16(3) : 139-41.
4. Wu B, Zhou RX, Zhou MS. Effect of acupuncture on interleukin-2 level and NK cell immunoreactivity of peripheral blood of malignant tumor patients. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.*

- 1994 Sep ; 14(9) : 537-9.
5. Yu Y, Kasahara T, Asano K, Yu GD, Fang JQ, Guo SY, Sahara M, Hisamitsu T. Role of endogenous interferon- $\gamma$  on the enhancement of splenic NK cell activity by electroacupuncture stimulation in mice. *J Neuroimmunol.* 1998 ; 90 : 176-86.
  6. Du L, Jiang J, Cao X. Time course of the effect of electroacupuncture on immunomodulation of normal rat. *Chen Tzu Yen Chiu.* 1995 ; 20 : 36-9.
  7. Mori H, Nishijo K, Kawamura H, Abo T. Unique immunomodulation by electro-acupuncture in humans possibly via stimulation of the autonomic nervous system. *Neurosci Lett.* 2002 Mar ; 320(1-2) : 21-4.
  8. Park MB, Ko E, Ahn C, Choi H, Rho S, Shin MK, Hong MC, Min BI, Bae H. Suppression of IgE production and modulation of Th1/Th2 cell response by electroacupuncture in DNP-KLH immunized mice. *J Neuroimmunol.* 2004 Jun ; 151(1-2) : 40-4.
  9. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression : a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature.* 1977 ; 266(5604) : 730-2.
  10. Koo HN, Lee JK, Hong SH, Kim HM. Herb-kines increases physical stamina in mice. *Biol Pharm Bull.* 2004 Jan ; 27(1) : 117-9.
  11. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970 ; 227 : 680-85.
  12. Mague SD, Pliakas AM, Todtenkopf MS, Tomasiwicz HC, Zhang Y, Stevens WC Jr, Jones RM, Portoghese PS, Carlezon WA Jr. Antidepressant-like effects of kappa-opioid receptor antagonists in the forced swim test in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003 ; 305(1) : 323-30.
  13. Deyama T, Nishibe S, Nakazawa Y. Constituents and pharmacological effects of *Eucommia* and Siberian ginseng. *Acta Pharmacol Sin.* 2001 ; 22(12) : 1057-70.
  14. Kim KM, Yu KW, Kang DH, Suh HJ. Anti-stress and anti-fatigue effect of fermented rice bran. *Phytother Res.* 2002 ; 16(7) : 700-2.
  15. Shin HY, Shin TY, Seo SW, Na HJ, Kwon YT, Song BK, Lee EJ, Kim YK, Hong MC, Shin MK, Hong SH, Kim HM. Decrease of immobility behavior in forced-swimming test and immune system enhancing effect of traditional medicine *Gamshipjundaebo-tang*. *Pharmacol Biochem Behav.* 2004 Oct ; 79(2) : 253-9.
  16. Lindquist S, Craig EA. The heat-shock proteins. *Annu Rev Genet.* 1988 ; 22 : 631-77. Review.
  17. Habich C, Baumgart K, Kolb H, and Burkart V. The receptor for heat shock protein 60 on macrophages is saturable, specific, and distinct from receptors for other heat shock proteins. *J Immunol.* 2002 Jan ; 168(2) : 569-76.
  18. Asea A, Kraeft SK, Kurt-Jones EA, Stevenson MA, Chen LB, Finberg RW, Koo GC, Calderwood SK. HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependant pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine. *Nat Med.* 2000 Apr ; 6(4) : 435-42.
  19. Zugel U, Kaufmann SH. Immune response against heat shock proteins in infectious diseases. *Immunobiology.* 1999 Sep ; 201(1) : 22-35. Review.
  20. Kissling R, Growbug A, Tvanyi J, Soderstrom K, Ferm M, Kleinau S, Nisseon E, and Klareskog L. Role of hsp60 during autoimmune and bacterial inflammation. *Immunol Rev.* 1991 Jun ; 121 : 91-111. Review.
  21. Abulafia-Lapid R, Elias D, Raz L, Keren-Zur Y, Atlan H, and Cohen IR. T cell proliferative responses of type 1 diabetes patients and healthy individuals to human hsp60 and its peptides. *J Autoimmun.* 1999 Mar ; 12(2) : 121-9.
  22. Szewczuk MR, Depew WT. Evidence for T lymphocyte reactivity to the 65 kilodalton heat shock protein of mycobacterium in active Crohn's disease. *Clin Invest Med.* 1992 Dec ; 15(6) : 494-505.
  23. Pockley AG. Heat shock proteins, inflammation, and cardiovascular disease. *Circulation.* 2002 Feb ; 105(8) : 1012-7. Review.
  24. Pope RM, Lovis RM, and Gupta RS. Activation of synovial fluid T lymphocytes by 60-kd heat-shock proteins in patients with inflammatory synovitis. *Arthritis Rheum.* 1992 Jan ; 35(1) : 43-8.

25. Fortugno P, Beltrami E, Plescia J, Fontana J, Pradhan D, Marchisio PC, Sessa WC, Altieri DC. Regulation of survivin function by Hsp90. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003 Nov ; 100(24) : 13791-6.
26. Srivastava PK. Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*. 2002 Mar ; 2(3) : 185-94. Review.
27. Millar DG, Garza KM, Odermatt B, Elford AR, Ono N, Zihai L, Ohashi PS. Hsp 70 promotes antigen-presenting cell function and converts T-cell tolerance to autoimmunity in vivo. *Nat Med*. 2003 Dec ; 9(12) : 1469-76.