

원저

足三里 電鍼이 흰쥐의 老化에 미치는 影響

이준성* · 임윤경** · 김영일*

*대전대학교 한의과대학 침구학교실

**대전대학교 한의과대학 경혈학교실

Abstract

A Study on Anti-aging of Electroacupuncture at Joksamni(ST₃₆) in Rats

Lee Jun-seong*, Yim Yun-kyoung** and Kim Young-il*

*Dept. of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Daejeon University

**Dept. of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Daejeon University

Objectives : The purpose of this study is to investigate the effect of electroacupuncture at Joksamni(ST₃₆) on Rat's aging by experimental methods.

Methods : The author performed several experimental procedures to observe the effects of the EC-HAS at the arthritis. First, I measured the cell survival rate of the mice lung fibroblasts. Second, the incidence rate of arthritis and arthritis index of CIA were analyzed. Third, the levels of IL-6, IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IgG, IgM and anti-collagen II were measured in serum and the level of IFN- γ , IFN- γ /IL-4 ratio in the CIA mouse spleen cell culture. Fourth, histological analysis of the mice joint was performed. Fifth, the expression ratio of CD3e⁺ cells to CD19⁺ cells, CD4⁺ cells to CD8⁺ cells, CD11a⁺CD19⁺ cells, CD4⁺CD25⁺ cells, CD3e⁺CD69⁺ cells, and CD11b⁺Gr-1⁺ cells were checked.

Results :

1. The hematocrit was meaningfully (p<0.01, p<0.05) decreased in ST₃₆ group in comparison with the control and sham group.
2. The glucose, ALP were meaningfully (p<0.05, p<0.05) decreased in ST₃₆ group in comparison with

· 접수 : 2007년 5월 11일 · 수정 : 2007년 5월 11일 · 채택 : 2007년 5월 17일
 · 교신저자 : 김영일, 대전광역시 서구 둔산동 대전대학교 둔산한방병원 침구과
 Tel. 042-470-9137 E-mail : omdkim01@dju.ac.kr

the control group.

3. In the activation of hepatic antioxidase, the catalase was meaningfully ($p < 0.01$) increased in ST₃₆ group in comparison with the control group.

4. In the liver, the NO formation was meaningfully ($p < 0.001$) decreased in ST₃₆ group in comparison with the normal, control and sham group.

5. In the activation of splenic antioxidase, the GSH was meaningfully ($p < 0.01$) increased in ST₃₆ group in comparison with the sham group, and the catalase was meaningfully ($p < 0.001$) increased in ST₃₆ group in comparison with the control group.

6. In the spleen, the MDA formation was meaningfully ($p < 0.01$, $p < 0.05$) decreased in ST₃₆ group in comparison with the control and sham group.

7. In the spleen cell culture, the levels of IL-6 was meaningfully ($p < 0.05$) decreased in comparison with the sham group, IFN- γ was meaningfully ($p < 0.05$) increased in comparison with the control group.

Conclusions : According to the results, it is considered that electroacupuncture at Joksamni(ST₃₆) is effective in increasing the activities of antioxidative enzyme and inhibiting lipid peroxides, and has an immunomodulatory reaction. In conclusion, it has a significant anti-aging effect and needs more experimental study.

Key words : Electroacupuncture, ST₃₆, Anti-aging, SOD, GSH, NO, MDA, IL-4, IL-6, INF- γ

I. 緒 論

最近 壽命 延長으로 인한 老年層의 增加로 老化는 成人病 또는 老人性 疾患의 主要原因이 되며 이를 극복하는 것이 老人病을 輕減시키는 方法 중 하나로 浮刻되고 있다¹⁾.

老化는 生命體의 成長과 時間 經過에 따라 進行되는 一連의 退行性變化를 일으키는 自然的인 變化 過程으로 身體內의 平衡이 깨어져 內的 外的 環境에 대한 適應을 어렵게 만드는 身體의 構造와 機能의 漸進的인 低下를 誘發하여 疾病을 增加시키고 窮極的으로는 死亡을 초래하는 것을 意味한다²⁾.

韓醫學에서는 老化를 生, 長, 壯, 老, 死 하는 人類 生命의 自然法則으로 認識하였고 老化의 原因을 나이가 增加함에 따라서 장기간에 걸친 陰陽, 臟腑, 氣血, 經絡, 情志의 變化로 인한 生命의 衰退現象으로 把握하였다^{3,4)}.

足三里는 理脾胃, 調氣血, 補虛弱, 通調經絡氣血, 扶正培元, 祛邪防病 하는 效能을 가지며, 특히 慢性 病에 效果가 있고 古來로 無病長壽하는 穴로 알려져 있어⁵⁻⁷⁾ 본 研究에서 활용하였다.

老化의 原因을 규명하는 가설로는 telomere 理論의 老化 豫定說(genetic programming theories of aging), Free radical 理論의 有害因子 損傷說(theories of aging related to primary damage), 위의 두 假設을 統合하여 하나의 假設로 發展시킨 老化의 통합모델(unifying model of the programmed and stochastic theoris of aging)이 있는데⁸⁻¹¹⁾ 그 중 free radical 理論을 응용하여 抗酸化를 통한 抗老化를 검증하기 위해서 여러 가지 實驗研究가 이루어지고 있다. 韓藥을 이용한 研究로는 鹿茸 등¹²⁻¹⁷⁾의 單味劑, 補中益氣湯과 六味地黃湯 등¹⁸⁻²⁵⁾의 複合處方, 澤瀉藥 鉞 등²⁶⁻²⁹⁾의 抗酸化 效果가 報告되었다. 脾胃機能을 調節하고 氣血의 作用을 순조롭게 하는 足三里⁵⁻⁷⁾ 電鉞에 관한 研究로는 免疫 등³⁰⁻³⁶⁾에 관한 내용이 보고되고 있으나 足三里 電鉞의 抗老化作用에 대한 報告는 접한 바 없었다.

이에 著者는 足三里 電鉞의 抗老化作用을 立證하고자 hematology와 blood chemistry를 분석하고, 肝과 脾臟組織을 分割하여 SOD 함량, glutathione 함량, catalase 함량, NO 함량, MDA 함량을 측정하고, 脾臟細胞에서 cytokine을 측정하여 有意한 結課를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料

1) 動物

실험동물은 (주)샘타코로부터 공급받은 雌性的 6 주령 Sprague-Dawley Rat(180±10g) 및 32주령의 Sprague-Dawley Rat(550±10g 이하 SD-rat)을 1주일 동안 일정한 조건의 실험실환경 (溫度: 22±2℃, 濕度: 50%, 明暗: 12시간 light/dark cycle)에서 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2. 實驗方法

1) 실험군 설정

실험동물은 각각 正常群(normal group), 對照群(control group), 非穴位電鍼群(sham group), 足三里 電鍼群(ST₃₆ group)으로 분류하였고, 각 실험군은 흰쥐 8 마리씩으로 하였다.

① 正常群(normal group) : 6주령의 SD-rat(180±10g)

② 對照群(control group) : 32주령의 SD-rat(550±10g)

③ 非穴位 電鍼群(sham group) : 32주령의 SD-rat(550±10g)에 8주 동안 주 2회 간격으로, 매회 15분간 아크릴 상자에 넣고 좌측 둔부에 電鍼자극을 가한 군

④ 足三里 電鍼群(ST₃₆ group) : 32주령의 SD-rat(550±10g)에 8주 동안 주 2회 간격으로, 매회 15분간 아크릴 상자에 넣고 왼쪽 足三里(ST₃₆)에 電鍼자극을 가한 군

2) 電鍼刺戟

실험동물이 電鍼 시술 동안 움직이는 것을 방지하기 위하여 특수제작한 아크릴 상자에 실험동물을 넣고 상자의 구멍을 통하여 실험동물의 다리를 밖으로 꺼내어 아크릴 상자의 벽에 고정하고 멸균된 stainless steel 호침(0.25 × 30mm, Dong Bang Acupuncture Co. Korea)을 이용하여 골도분층법에 준하여 인체의 足三里에 상응하는 부위에 자침한 후 電鍼자극기(PG

-6, Ito Co., Japan)를 사용하여 8주 동안 주 2회 간격으로 2Hz의 저빈도에서 근육의 수축이 육안으로 확인되는 정도의 강도로 전압을 조절하여 15분간 자극하였다.

3) Hematology 분석

실험 종료 24시간 후 ethyl ether를 이용해 rat를 마취하고 심장 채혈법으로 채혈하였다. 채혈한 혈액은 CBC bottle에 넣어 RBC, WBC, PLT를 (주)이원 임상검사센터(Daejeon, Korea)에 의뢰하여 측정하였다.

4) Blood chemistry 분석

실험 종료 24시간 후 ethyl ether를 이용해 rat를 마취하고 심장 채혈법으로 채혈하였다. 채혈한 혈액은 6500rpm 15분간 원심 분리하여 LDL-cholesterol, total Bilirubin, albumin, ALP, glucose, GOT, GPT를 (주)이원 임상검사센터에 의뢰하여 측정하였다.

5) 항산화 효과 측정

(1) 肝과 脾臟組織의 분획

실험동물을 ether로 마취시킨 후 복부 정중선을 따라 절개하고 복부대동맥에서 혈액을 취하였다. 생리 식염수로 관류하여 혈액을 제거한 후 간과 비장 조직의 일부를 적출하여 여지로 혈액 및 이물질을 제거하고 Barber 등^{37,38)}의 방법에 의해 간 조직 1g에 4배의 150mM의 KCl을 가하여 homogenizer를 이용하여 균질화 하였다. 균질화한 조직을 600×g에서 10분간 원심분리하여 균질화 되지 않은 조직 등을 제거한 후 상등액을 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 이 상등액을 105,000×g에서 1시간 원심분리 하여 cytosolic fraction으로 그 침전물에 동일한 양의 0.1M potassium phosphate buffer를 가하여 현탁시켜 microsomal fraction을 얻었다. microsomal fraction에서 glutathione의 함량과 MDA의 함량을 측정하였고, cytosolic fraction을 이용하여 SOD 생성저해 효과와 NO의 함량을 측정하였으며, mitochondrial fraction에서 catalase의 활성 측정하였다.

(2) SOD 활성도 측정

SOD 활성도는 SOD assay kit(Dojondo, Japan)를

이용하여 450nm에서 흡광도를 측정 후 SOD 활성도를 계산하였다.

(3) Glutathione 함량 측정

조직 내 Glutathione 함량은 kit(Dojondo, Japan)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정해서 glutathione의 농도를 구하였다.

(4) NO 함량 측정

조직 내 NO 함량은 kit(Oxford, U.S.A)를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정해서 NO의 농도를 구하였다.

(5) Lipid peroxide content 측정

Lipid peroxidation assay kit(Oxford, U.S.A)를 이용하여 측정하였고 586nm에서 흡광도를 측정한 후 MDA를 계산하였다.

(6) Catalase 활성도 측정

Catalase 활성도 측정은 Aebi³⁹⁾의 방법에 따라 3.0 ml cuvette에 130mM phosphate buffer(pH 7.0) 500 μ l, 간 분획물 40 μ l와 증류수 660 μ l를 혼합하여 기질인 15mM H₂O₂ 농도에 의한 흡광도의 감소율을 540nm에서 측정하였다. 효소의 활성도는 1분 동안 1 μ M의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1unit로 표시하였다.

6) 脾臟細胞에서의 cytokine 측정

(1) 세포배양

Rat의 脾臟組織을 摘出하여 D-PBS로 3회 세척한 후 40 μ m nylon mesh에 갈아서 conical tube(15ml)에 넣어 1,400rpm에서 5분간 원심분리하고 상층을 제거한 후 ACK blood lysis sol. 2ml를 넣고 실온에 5분 동안 방치한 후 10ml의 D-PBS를 넣어 1,400rpm에서 5분간 원심분리하여 脾臟細胞를 얻었다. 脾臟細胞를 5% fetal bovine serum과 antibiotics(penicillin 100U/ml, streptomycin 100 μ g/ml)가 포함된 RPMI 1640 medium(Sigma, U.S.A)에 넣어서 5 \times 10⁶ cells/ml로 맞추고, 50 μ g/ml의 anti-CD3/CD28 항체가 coating 되어 있는 96well plate에 分株하여 37 $^{\circ}$ C CO₂ 배양기에서 48시간 동안 배양하였다. 배양 후 원심분리하여 상층액만을 분리하였고 상층액 중에 분비된 cytokines을 ELISA를 이용하여 측정하였다.

(2) Cytokine 측정

ELISA Kit(Biosource, U.S.A)를 사용하여 spleen cell culture supernatant에서 IL-4, IL-6 그리고 IFN- γ 를 測定하였다. 抗cytokine 抗體가 코팅된 96 well plate에 supernatant을 가하여 반응시킨 후 4번 세척하고, 다시 biotin이 표식된 抗cytokine 抗體를 가하여 반응시킨 후 4번 세척하였다. 여기에 streptavidin-HRP를 가하고 ELISA-reader를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 통계분석

본 실험에서 얻은 결과에 대하여 ANOVA multi t-test(JAVA, Bonferroni Ver II)로 분석하여 p값을 구하였다. p<0.05 일 때 유의성을 인정하였다.

III. 結 果

1. Hematology 분석

각 실험동물의 혈액을 채취하여 혈구수를 측정하였다(Table 1).

1) WBC

각 실험동물의 혈액을 채취하여 백혈구의 수를 측정한 결과, control에서 normal에 비하여 백혈구 수가 감소하였으며, ST₃₆에서는 백혈구 수가 control에 비하여 뚜렷이 증가하였으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 1).

2) RBC

각 실험동물의 혈액을 채취하여 적혈구의 수를 측정한 결과 control과 sham, ST₃₆에서 normal에 비하여 적혈구 수가 有意性 있게 증가하였다(Fig. 2).

3) PLT

각 실험동물의 혈액을 채취하여 혈소판의 수를 측정한 결과 control과 sham에서 normal에 비하여 有意性 있게 增加하였으며 ST₃₆에서는 control과 sham에 비하여 혈소판 수가 有意性 있게 減少하였다(Fig. 3).

Table 1. Effect of EA at ST₃₆ on CBC (complete blood count)

Parameter	Normal	Control	Sham	ST ₃₆
WBC (10 ³ cells/ μ l)	9.652 \pm 1.053	6.836 \pm 1.56	8.104 \pm 1.169	8.484 \pm 2.421
RBC (10 ⁶ cells/ μ l)	8.552 \pm 0.173	8.92 \pm 0.107	8.836 \pm 0.12	9.294 \pm 0.421
Platelet (10 ³ cells/ μ l)	515 \pm 53.642	715 \pm 105.033	661.4 \pm 80.008	506.4 \pm 23.881

Values represent mean \pm SEM (n=8).

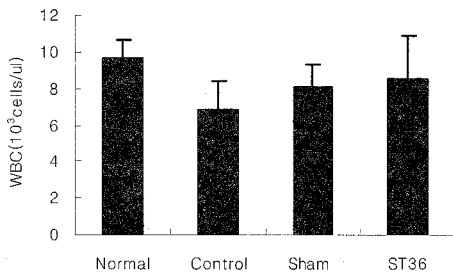


Fig. 1. Number of WBC in rat blood

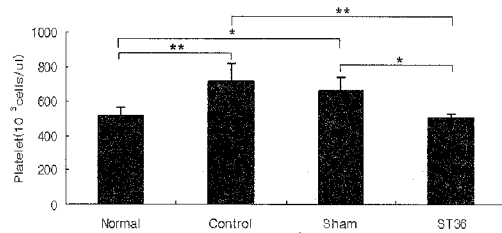


Fig. 3. Number of PLT in rat blood

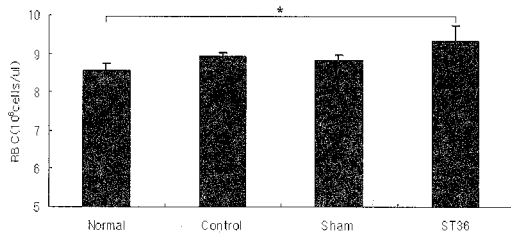


Fig. 2. Number of RBC in rat blood

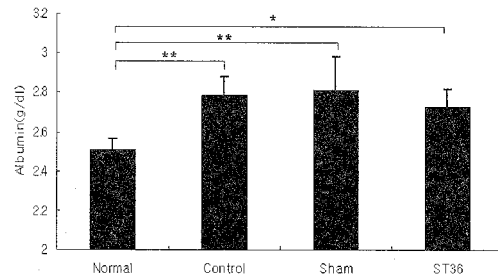


Fig. 4. Level of albumin in rat serum

2. Blood chemistry 분석

각 실험군의 혈청으로부터 혈청 단백질인 albumin, total bilirubin, LDL-cholesterol, glucose, ALP, GOT 및 GPT의 농도를 측정하였다(Table 2).

1) Albumin

각 실험동물에서 취한 혈청에서 항산화 단백질인 albumin의 농도를 측정한 결과, control, sham 및 ST₃₆에서 normal에 비하여 有意性 있게 增加하였다. ST₃₆에서는 control 및 sham에 비하여 약간 減少하

였으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 4).

2) Total bilirubin

각 실험동물에서 취한 혈청에서 항산화 물질로 작용하는 total bilirubin을 측정한 결과, normal에 비하여 control, sham 및 ST₃₆에서 有意性 있게 감소하였다(Fig. 5).

3) LDL-cholesterol

각 실험동물에서 취한 혈청에서 산화 작용에 의한 LDL-cholesterol의 생성을 측정한 결과, control,

Table 2. Effect of EA at ST₃₆ on blood chemistry

Parameter	Normal	Control	Sham	ST ₃₆
Albumin (g/dl)	2.508±0.059	2.786±0.09	2.806±0.178	2.728±0.089
Total bilirubin (mg/dl)	0.326±0.024	0.21±0.019	0.236±0.018	0.262±0.029
LDL-cholesterol (mg/dl)	16.8±1.924	36±4.183	36.6±5.225	30±2
Glucose (mg/dl)	151.4±15.356	116.2±7.791	122.2±3.899	137.6±11.459
ALP (IU/l)	237±40.324	369.8±45.453	328.2±16.858	280.8±57.807
GOT (IU/l)	210.4±42.33	287.6±42.624	307.2±27.499	27±11.467
GPT (IU/l)	36.2±4.438	64.2±18.966	59.4±8.204	53.8±10.109

Values represent mean ± SEM(n=8).

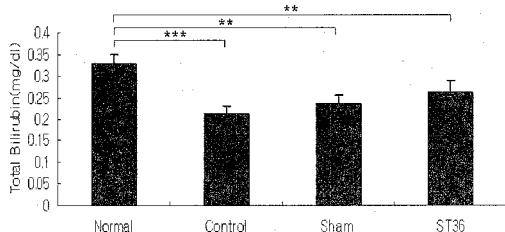


Fig. 5. Level of total bilirubin in rat serum

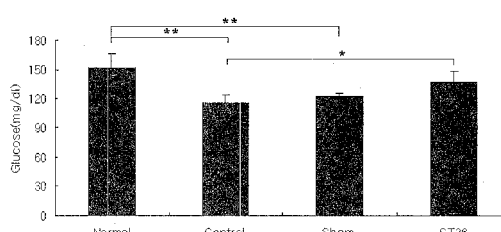


Fig. 7. Level of glucose in rat serum

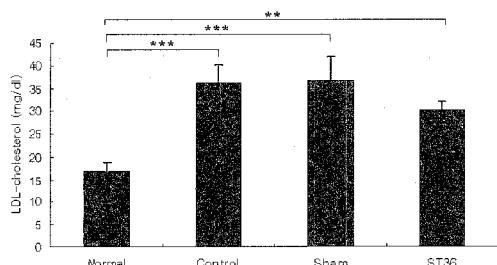


Fig. 6. Level of LDL-cholesterol in rat serum

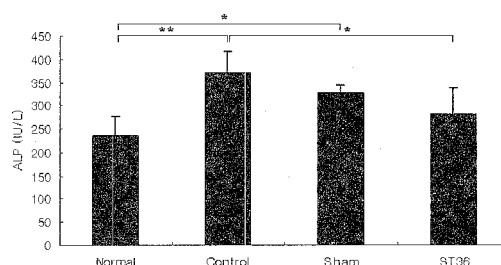


Fig. 8. Level of ALP in rat serum

sham 및 ST₃₆에서 normal에 비하여 有意性 있게 增加하였고, ST₃₆에서는 control에 비하여 減少하였으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 6).

4) Glucose

각 실험동물에서 취한 혈청에서 glucose의 양을 측정 한 결과 control과 sham에서 normal에 비하여 有意性 있게 減少하였으며, ST₃₆에서는 control에 비

하여 有意性 있게 增加하였다(Fig. 7).

5) ALP

각 실험동물에서 취한 혈청에서 간에 존재하는 효소인 ALP의 양을 측정 한 결과, control과 sham에서 normal에 비하여 有意性 있게 增加하였으며, ST₃₆에서는 control에 비하여 有意性 있게 減少하였다(Fig. 8).

Table 3. Effect of EA at ST₃₆ on various oxidants and anti-oxidants in rat liver

Parameter	Normal	Control	Sham	ST ₃₆
SOD activity (%)	90±8.336	79±3.683	77±5.658	85±5.26
GSH conc. (umol/ℓ)	137.9±9.6	106±12.9	116.6±7.5	125.6±10.5
Catalase activity (U/mg)	284±6.7	165±4.4	176±5.6	216±4.8
NO conc. (umol/ℓ)	81.3±3.4	886.7±6.3	83.5±4.2	42.3±5.2
MDA conc. (umol/ml)	3.03±0.208	3.23±0.306	3.93±0.462	3.33±0.115

Values represent mean ± SEM(n=8).

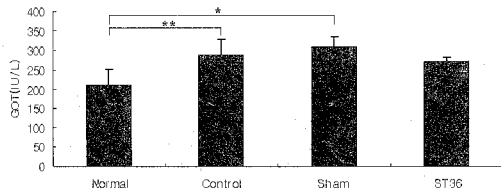


Fig. 9. Level of GOT in rat serum

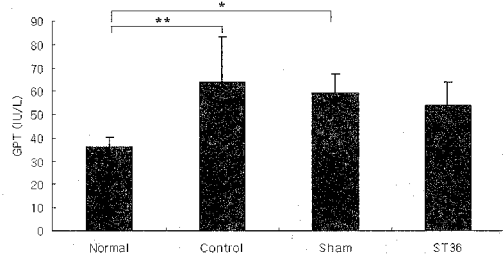


Fig. 10. Level of GOT in rat serum

6) GOT

각 실험동물의 혈청 GOT 양을 측정한 결과 control, sham에서 normal에 비하여 GOT의 양이 有意性 있게 增加하였다. ST₃₆에서는 control과 sham에 비하여 減少하였으나 통계적 有意性은 없었다 (Fig. 9).

7) GPT

각 실험동물의 혈청 GPT 양을 측정한 결과, control, sham에서 normal에 비하여 GPT의 양이 有意性 있게 增加하였으며, ST₃₆에서도 증가를 나타냈으나 有意性은 없었다. ST₃₆에서는 control과 sham에 비하여 GPT의 양이 減少하였으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 10).

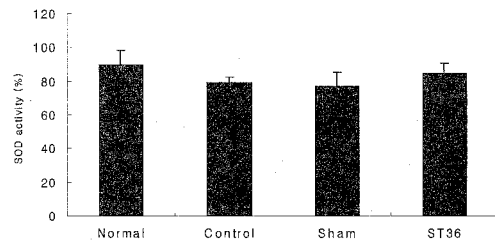


Fig. 11. SOD activity in liver

3. 간 조직에서의 항산화 효과 확인

足三里 電鍼의 항산화 효과를 알아보기 위하여 실험동물의 분획한 간 조직으로부터 SOD 함량, GSH 함량, catalase 함량, NO 함량 및 MDA 함량을 측정하였다(Table 3).

1) SOD activity

분획한 간 조직으로부터 항산화 효소인 SOD의 활성을 측정한 결과 ST₃₆에서 control과 sham에 비하여 약간 높은 SOD 활성을 나타내었으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 11).

2) Glutathione concentration

분획한 간 조직으로부터 항산화 효소인 glutathione의 함량을 측정한 결과 ST₃₆에서 control과 sham에 비하여 높은 glutathione 함량을 나타내었으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 12).

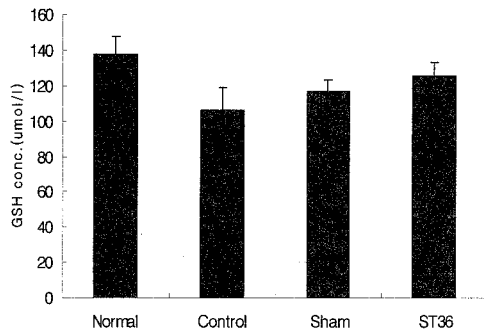


Fig. 12. Glutathione concentration in liver

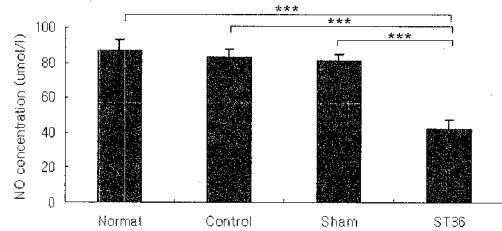


Fig. 14. Nitric oxide concentration in liver

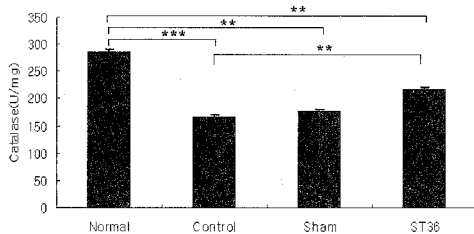


Fig. 13. Catalase activity in liver

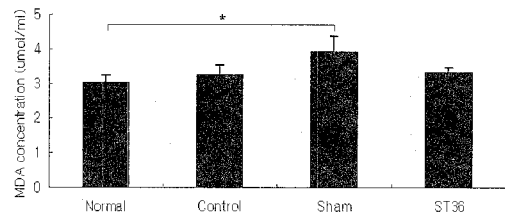


Fig. 15. MDA concentration in liver

3) Catalase activity

분획한 간 조직으로부터 항산화 효소인 catalase의 함량을 측정된 결과, control 과 sham 및 ST₃₆에서 normal에 비하여 유의한 감소를 나타내었으며, ST₃₆에서는 control에 비하여 catalase의 함량이 有意性 있게 增加하였다(Fig. 13).

4) Nitric oxide concentration

분획한 간 조직으로부터 산화물질인 NO의 함량을 측정된 결과이다.

Normal에 비하여 control과 sham에서는 미세한 감소를 나타냈으나 통계적 有意性을 나타내지는 않았으며, ST₃₆에서는 normal, control 그리고 sham에 비하여 NO의 함량이 有意性 있게 減少하였다. (Fig. 14).

5) MDA concentration

분획한 간 조직으로부터 산화물질인 MDA의 함량을 측정된 결과이다. Normal에 비하여 sham에서 有意性 있게 增加하였으며, ST₃₆에서는 control과 sham

에 비하여 減少하였으나 통계적 有意性을 나타내지는 않았다(Fig. 15).

4. 비장 조직에서의 항산화 효과 확인

足三里 電鍼의 항산화 효과를 알아보기 위하여 실험동물의 분획한 비장 조직으로부터 SOD 함량, GSH 함량, catalase 함량, NO 함량 및 MDA 함량을 측정하였다(Table 4).

1) SOD activity

분획한 비장 조직으로부터 항산화 효소인 SOD의 활성을 측정된 결과이다.

Normal에 비하여 control과 sham의 SOD 활성도가 감소하였으나 통계적 有意性은 없었으며, ST₃₆은 control에 비하여 SOD의 활성도가 증가하였으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 16).

2) Glutathione concentration

분획한 비장 조직으로부터 항산화 효소인

Table 4. Effect of the EA at ST₃₆ on vatrious oxidants and antioxidants in rat Spleen

Parameter	Normal	Control	Sham	ST ₃₆
SOD activity (%)	95±8.326	74±3.683	77±5.658	88±5.26
GSH conc. (umol/l)	138.5±9.6	112.4±12.9	108.4±7.5	123.7±10.5
Catalase activity (U/mg)	256±5.2	171.7±6.3	171.8±4.2	212.6±3.4
NO conc. (umol/l)	86.7±6.3	83.5±4.2	81.3±3.4	72.33±7.2
MDA conc. (umol/ml)	2.8±0.208	0.173	0.208	3.4±0.153

Values represent mean ± SEM(n=8).

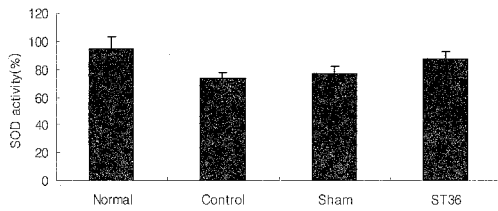


Fig. 16. SOD activity in spleen

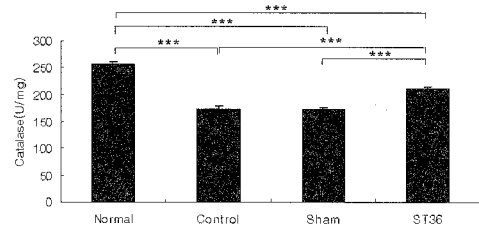


Fig. 18. Catalase activity in spleen

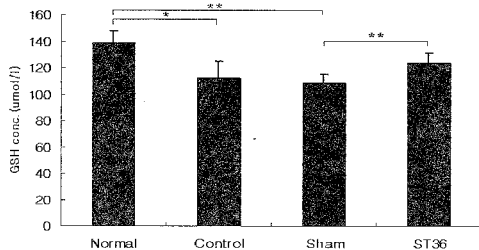


Fig. 17. Glutathione concentration in spleen

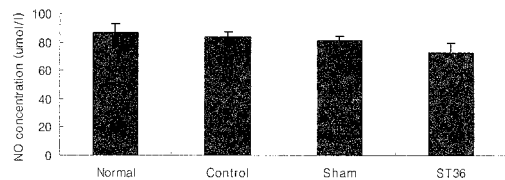


Fig. 19. Nitric oxide concentration in spleen

glutathione의 함량을 측정된 결과 control과 sham에서 normal에 비하여 有意性 있게 減少하였다. ST₃₆에서는 glutathione의 함량이 control에 비하여 증가하였으나 통계적 有意性은 없었고, sham과 비교하였을 때에는 有意性 있게 증가하였다(Fig. 17).

3) Catalase activity

분획한 비장 조직으로부터 항산화 효소인 catalase의 함량을 측정된 결과 normal에 비하여 control과 sham 그리고 ST₃₆에서 catalase의 함량이 有意性 있게 감소한 것을 확인 할 수 있었으며, ST₃₆은 control에 비하여 有意性 있게 증가하였다(Fig. 18).

4) Nitric oxide concentration

분획한 비장 조직으로부터 산화물질인 NO의 함량을 측정된 결과 normal에 비하여 control과 sham에서 미세한 감소를 확인하였으며, ST₃₆에서는 control과 sham에 비하여 약간 減少하였으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 19).

5) MDA concentration

분획한 비장 조직으로부터 산화물질인 MDA의 함량을 측정된 결과 control과 sham 그리고 ST₃₆은 normal에 비하여 有意性 있게 증가하였으며, ST₃₆은 control 및 sham에 비하여 有意性 있게 減少

Table 5. Effect of EA at ST₃₆ on cytokines in rat spleen cell culture

Parameter	Normal	Control	Sham	ST ₃₆
IL-4	0.47±0.02	0.67±0.14	0.57±0.02	0.53±0.03
IL-6	0.43±0.02	0.65±0.05	0.68±0.03	0.56±0.09
IFN-γ	0.28±0.01	0.22±0.02	0.23±0.02	0.26±0.01

Values represent mean ± SEM (n=8).

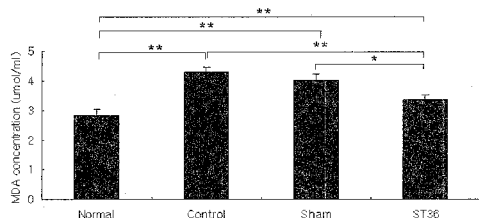


Fig. 20. MDA concentration in spleen

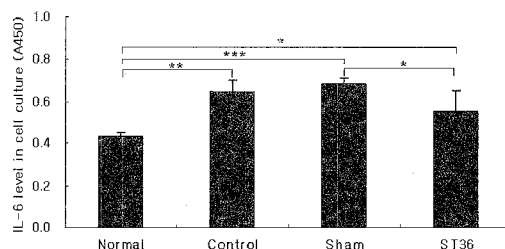


Fig. 22. Level of IL-6 in rat spleen cell culture

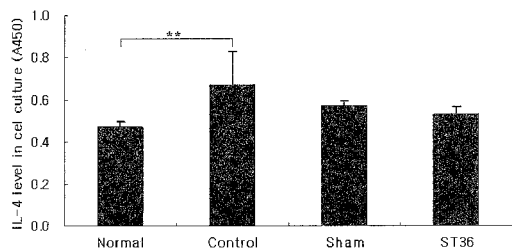


Fig. 21. Level of IL-4 in rat spleen cell culture

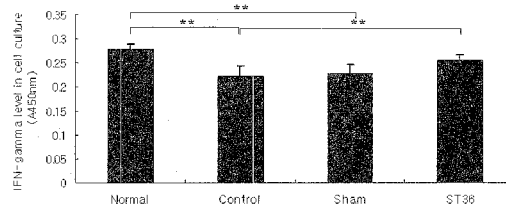


Fig. 23. Level of IFN-γ in rat spleen cell culture

하였다(Fig. 20).

5. 脾臟細胞에서의 cytokine 측정

각 실험군의 비장세포에서 cytokine을 측정하였다 (Table 5).

1) IL-4 in rat spleen cell culture

실험동물의 脾臟細胞에서 IL-4 level을 측정한 결과 control에서 normal에 비하여 有意性 있게 증가하였다(Fig. 21).

2) IL-6 in rat spleen cell culture

실험동물의 脾臟細胞에서 IL-6 level을 측정한 결과 control과 sham에서 normal에 비하여 有意性 있게 증가하였으며, ST₃₆에서는 normal에 비하여 有意

性 있게 증가하였으나 sham과 비교하였을 때에는 有意性 있게 減少하였다(Fig. 22).

3) IFN-γ in rat spleen cell culture

실험동물의 脾臟細胞에서 IFN-γ level을 측정한 결과 control과 sham에서 IFN-γ가 normal에 비하여 有意性 있게 減少하였으며, ST₃₆에서는 control 비하여 有意性 있게 증가하였다(Fig. 23).

IV. 考 察

20세기 이후 人間의 平均壽命은 先進國을 중심으로 계속 증가하고 있는데 우리나라의 경우 지난

2000년 65세 이상 인구비율이 7.2%에 이르러 高齡化 社會에 들어섰으며, 향후 2018년에는 이 비율이 14.3%가 되어 高齡社會에 진입하고, 2026년에는 20.8%가 되어 超高齡社會에 도달할 것으로 전망되고 있다. 이와 같이 노인인구의 급증과 더불어 노화방지와 삶의 질을 높이는 것에 많은 관심이 쏟아지고 있다^{40,41)}.

일반적으로 老化란 동물의 發育, 成長, 成熟과 老化의 생물학적 과정에서 形態的, 機能的 退縮, 豫備力과 適應力의 저하로 死亡에 귀착되는 보편적인 生理的 現象을 말하는 것으로⁴²⁾ 사람은 나이가 들어감에 따라서 老化色素의 침착, 小脂肪球의 蓄積, 細胞實質의 減少, 핵의 위축, Nissl's body의 감소, Golgi's body의 파괴, 산소의 활성 및 기능저하, 血球細胞의 감소, 血清成分의 변화가 일어나며, 腦神經, 內分泌 및 각 臟腑系統의 退行性變化가 일어난다^{3,43)}.

韓醫學에서는 老化의 原因을 先天의 肝腎氣運의 不足과 後天的 환경에 따른 臟腑의 衰弱이라고 인식하고 있다. 이런 觀點에서 治療의 原則 또한 첫째는 陰精, 즉 先天之精을 保存하는 것이고, 둘째는 脾胃 後天之氣를 補益하는 것이라 하겠다^{4,44)}.

歷代文獻을 살펴보면 《靈樞·天年篇》⁴⁵⁾에서는 “五十歲 肝氣始衰…; 六十歲 心氣始衰…; 七十歲 脾氣虛…; 八十歲 肺氣虛…; 九十歲 腎氣焦…; 百歲五臟皆虛 腎氣皆去 形骸獨居而終矣”라 하여 老化의 進行을 五臟之氣의 衰弱으로 說明하였으며, 《素問·上古天真論》⁴⁶⁾에서는 “女子七歲, 腎氣盛…; 五七, 陽明脈衰, 面始焦, 髮始墮; 六七, 三陽脈衰於上, 面皆焦, 髮始白; 七七, 任脈虛, 天衝脈衰少, 天癸竭, 地道不通, 故形壞而無子也. 丈夫八歲, 腎氣實…; 五八, 腎氣衰, 髮墮齒槁; 六八, 陽氣衰竭於上, 面焦, 髮鬢頽白; 七八, 肝氣衰, 筋不能動, 天癸竭, 精少, 腎藏衰, 形體皆極; 八八, 則齒髮去. 腎者主水, 受五藏六府之精而藏之, 故五藏盛, 乃能寫. 今五藏皆衰, 筋骨解墮, 天癸盡矣. 故髮鬢白, 身體重, 行步不正, 而無子耳”라 하여 人間의 나이에 따른 成長 및 老化의 과정을 표현하면서 腎氣의 盛衰가 老化와 밀접한 連關性이 있음을 제시하였고, 《素問·陰陽應象大論》⁴⁶⁾에서는 “年四十, 而陰氣自半也, 起居衰矣. 年五十, 體重, 耳目不聰明矣. 年六十, 陰痿, 氣大衰, 九竅不利, 下虛上實, 涕泣俱出矣”라 하여 陰精의 虧損으로 一連의 老化를 가져온다 하였으며, 《醫學正傳》⁴⁷⁾에서는 “腎元盛則壽延, 腎元衰則壽夭”라 하여 長壽하는 것이 腎氣의 盛衰與否에 의하여 決定된다고 하였다.

이와 같이 老化의 주된 觀點이 주로 補腎, 補陰에 偏重되어 있음을 알 수 있다. 그러나 最近 社會의 발달과 더불어 건강에 대한 관심이 社會的으로 높아지고 있는 현실에서 後天的 要因에 대한 重要性이 浮刻되고 있다.

後天失調은 脾胃虛損 臟腑虛弱으로 起居無節 妄于 勞作 하여 오는 것으로 氣候와 地域의 影響을 받는다고 하여 飲食, 起居 및 免疫과 連關이 있다고 볼 수 있다⁴⁾.

《東垣十種醫書·脾胃論》⁴⁸⁾에서는 “脾胃不足 爲百病之始”라 하여 五臟 중 脾胃의 重要性을 강조하였으며, 脾臟은 脾主運化, 脾統血, 脾主肌肉, 脾主四肢⁴⁹⁾ 하는 중요한 生理機能을 가지고 있는 장기이다. 따라서 老化研究에 있어서 人體의 生命活動을 維持하는 중요한 臟腑中의 하나로 後天的 要因과 가장 밀접한 關係가 있는 脾臟을 살펴보는 것도 의미 있는 일이라 생각한다.

肝臟은 肝主疏泄, 肝藏血, 肝主筋, 肝主謀慮⁵⁰⁾라 하여 人體의 氣血循環과 精神活動에도 關여하고 있으며, 最近 競爭社會가 普遍化되면서 스트레스에 대한 관심이 크게 고조되어 萬病의 근원으로도 認識되고 있는 현실 속에서 그 重要性이 커지고 있다.

또한 肝臟은 일종의 外分泌腺으로서 人體內 대사를 총괄하는 臟器로 모든 생리물질을 생합성 또는 분해하여 에너지를 공급해주고 저장하며, 또한 外因性 및 內因性 毒性物質을 산화, 환원, 메틸화, 에틸화 또는 抱合시켜 解毒시켜 주는 機能을 가지고 있어⁵¹⁾ 여러 老化 關連 實驗에서 基本的으로 조사되고 있는 臟器이다.

足三里는 足陽明胃經의 合穴이며 理脾胃, 調氣血, 補虛弱, 通調經絡氣血, 扶正培元, 祛邪防病 하는 效能을 가진다. 胃痙攣, 胃炎, 胃無力症, 胃下垂症, 肝臟, 膽囊의 症狀 등 消化器病 전반에 效果가 있고, 呼吸器病, 心臟病, 中風 등에도 效果가 있다⁵⁻⁷⁾. 이와 같이 足三里는 옛부터 대부분의 慢性病에 使用하여 效果가 크며, 古來로 無病長壽하는 穴로 알려져 있다⁶⁾.

이에 著者는 脾胃를 調理하고 氣血을 순조롭게 하며, 扶正培元, 祛邪防病 등 免疫調節에도 效果가 있을 것으로 생각되는 足三里穴⁵⁻⁷⁾을 선택하여 “後天之本, 氣血生化之源”⁴⁹⁾으로 後天的 要因과 가장 關係가 있는 脾臟과 老化研究에 기본이 되는 肝臟을 중심으로 抗老化 作用을 觀察하였다.

西洋醫學에서는 老化의 機轉에 대하여 확실히 밝혀진 바는 없으며 크게 세 군으로 분류할 수 있다.

첫째는 遺傳子에 의해 生命體의 老化和 壽命이 예정되어 있다는 老化 豫定設(genetic programming theories of aging)로 telomere 理論이 가장 代表的이고, 다음으로는 여러 가지 해로운 인자들에 의한 生체물질의 損傷이 蓄積되어 老化에 이른다는 有害因子 損傷說(theories of aging related to primary damage)로 free radical 理論이 代表的이다. 그리고 위의 두 假設을 統合하여 하나의 假設로 발전시킨 老化的 통합모델(unifying model of the programmed and stochastic theoris of aging)이 있다⁹⁻¹¹⁾.

여러 가지 老化에 대한 理論中 free radical 理論이 注目을 받고 있는데, 이 설은 1956년 Harman이 free radical이 세포나 結체조직에 작용하여 해로운 物質을 生成하게 되고 이것이 蓄積된 結果가 老化和 退行性 疾病의 原因이라고 주장하여 提唱되었다⁸⁾.

Free radical은 짝이워지지 않은 전자(unpaired electron)를 가진 원자나 분자를 말하는 것으로, 正常的인 세포대사과정에서 生成되는데 放射線, 藥物, 오존 등 環境的 要因에 의하여 그 生成이 增加될 수 있으며, 生化學的으로 중요한 것은 산소(O₂, H₂O, OH⁻), 질소(NO), 탄소(CCl₃⁻) 중심의 라디칼이다^{52,53)}.

특히 산소를 함유하고 있는 free radical을 활성산소라 지칭하며, 이러한 반응산물은 O₂가 H₂O로 되는 환원과정에서 生成되는 中間산물이다. 포유류에서 일어나는 free radical반응은 대부분이 산소대사 과정에서 發生하는 산소 라디칼(O₂, H₂O, OH⁻)에 의한 것으로 알려져 있다⁵⁴⁾.

이들 free radical들은 반응성이 매우 강해서 여러 세포내 거대분자를 변성시킬 수 있는데, 특히 불포화 지방산을 포함한 지질을 쉽게 산화시켜 lipid peroxidation을 초래하여 최종산물인 MDA(Malondialdehyde)의 함량이 증가되고 결국 여러 세포막 구조의 기능을 상실케 한다⁵⁵⁾.

물론 생체 내에는 이러한 free radical의 생성을 억제하고 생성된 free radical을 효율적으로 제거하기 위한 효소 및 항산화제들이 존재하여 지질의 과산화를 억제하고 생체의 항상성을 유지한다. 항산화 효소로는 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-px), catalase 등이 있으며, 항산화제로는 β-carotene, tocopherol, uric acid, ceruloplasmin, transferrin 및 알부민 등이 있어 방어기전에 관여한다. 이중 GSH-px, catalase, ceruloplasmin, 알부민 등은 활성산소의 생성을 억제하고, SOD, vitamin E, vitamin C 등은 활성산소의 scavenger로 관여하

고 있다^{53,56,57)}.

이를 應用하여 抗酸化를 통한 抗老화를 검증하기 위해서 여러 가지 實驗研究가 이루어지고 있다. 韓藥을 이용한 研究로는 鹿茸 등¹²⁻¹⁷⁾의 單味劑, 補中益氣湯과 六味地黃湯 등¹⁸⁻²⁵⁾의 複合處方, 澤瀉藥鍼 등²⁶⁻²⁹⁾의 抗酸化 效果가 報告되었다. 脾胃機能을 調節하고 氣血의 作用을 순조롭게 하는 足三里⁵⁻⁷⁾ 電鍼에 관한 研究로는 免疫 등³⁰⁻³⁶⁾에 관한 내용이 보고되고 있으나 足三里 電鍼의 抗老作用에 대한 報告는 접한 바 없었다.

本 研究에서는 實驗動物을 각각 normal, control, sham, ST₃₆으로 분류하고 각 개체군의 hematology와 blood chemistry를 분석하고, 肝과 脾臟組織을 分割하여 SOD 함량, glutathione 함량, catalase 함량, NO 함량, MDA 함량을 측정하고, 脾臟細胞에서 cytokine을 측정하였으며 그 結果는 다음과 같다.

生理變化和 生化學的인 指標로 利用되고 있는 血液檢査 중 血液學的 變化에서는 血球細胞 및 血清成分의 變化를 測定하였는데, 血球細胞의 變化를 관찰한 結果 백혈구 수는 control에서 normal에 비하여 백혈구 수가 감소하였으며, ST₃₆에서는 백혈구 수가 control에 비하여 뚜렷이 증가하였으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 1).

적혈구 수는 control과 sham, ST₃₆에서 normal에 비하여 적혈구 수가 有意性 있게(p<0.05) 증가하였다(Fig. 2).

혈소판 수는 control과 sham에서 normal에 비하여 有意性 있게(p<0.01, p<0.05) 增加하였으며 ST₃₆에서는 control과 sham에 비하여 혈소판 수가 有意性 있게(p<0.01, p<0.05) 減少하였다(Fig. 3).

以上에서 볼 때 老化가 進行되면 造血機能의 위축과 形成不全으로 인한 造血機能의 低下로 赤血球와 白血球 수는 감소하며 血小板 수는 增加하는 경향을^{3,42)} 보이는데 本 實驗에서 ST₃₆은 control과 sham에 비하여 血小板 수가 有意性 있게 減少하여 足三里 電鍼이 抗酸化에 效果가 있다고 할 수 있겠으나 白血球, 赤血球 수에 있어서는 意味가 없었다.

血清學的 變化를 觀察한 結果에서 albumin은 control, sham 및 ST₃₆에서 normal에 비하여 有意性 있게(p<0.01, p<0.05) 增加하였다. ST₃₆에서는 control 및 sham에 비하여 약간 減少하였으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 4).

Total bilirubin은 normal에 비하여 control, sham 및 ST₃₆에서 有意性 있게(p<0.001, p<0.01, p<0.01)

감소하였다(Fig. 5).

LDL-cholesterol의 생성을 측정된 결과, control, sham 및 ST₃₆에서 normal에 비하여 有意性 있게 ($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.01$) 增加하였고, ST₃₆에서는 control에 비하여 減少하였으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 6).

Glucose는 control과 sham에서 normal에 비하여 有意性 있게($p < 0.01$, $p < 0.01$) 減少하였으며, ST₃₆에서는 control에 비하여 有意性 있게($p < 0.05$) 增加한 것을 확인하였다(Fig. 7).

ALP는 control과 sham에서 normal에 비하여 有意性 있게($p < 0.01$, $p < 0.05$) 增加하였으며, ST₃₆에서는 control에 비하여 有意性 있게($p < 0.05$) 減少하였다(Fig. 8).

GOT는 control, sham에서 normal에 비하여 有意性 있게($p < 0.01$, $p < 0.05$) 增加하였다. ST₃₆에서는 control과 sham에 비하여 減少하였으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 9).

GPT는 control, sham에서 normal에 비하여 有意性 있게($p < 0.01$, $p < 0.05$) 增加하였으며, ST₃₆에서도 증가를 나타냈으나 有意性은 없었다. ST₃₆에서는 control과 sham에 비하여 減少하였으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 10).

以上에서와 같이 本 實驗에서는 항산화 단백질인 albumin과 항산화 물질로 작용하는 total bilirubin에서는 노화와 관련한 의미 있는 변화가 관찰 되지 않았다. 그러나 산화 작용에 의한 LDL-cholesterol은 ST₃₆에서 control에 비하여 약간의 減少가 있었고, glucose는 세뇌관의 최대 흡수 능력이 감소되어 내당 능력이 저하되는 것으로 알려져 있는데⁵⁸⁾ ST₃₆에서 control에 비하여 有意性 있게 增加하였으며, 간에 존재하는 효소인 ALP, GOT, GPT의 경우 老化에 따라 肝機能 수치는 일반적으로 增加되는 경향^{41,58)}인데 ST₃₆에서 control 혹은 sham에 비하여 減少를 나타내어 足三里 電鍼이 血清學的으로도 肝機能 改善으로 인하여 抗老化 作用에 效果가 있는 것으로 思料된다.

肝과 脾臟組織의 분석은 실험동물을 마취시킨 후 혈액을 제거한 후 간과 비장 조직의 일부를 적출하고 원심분리 하여 microsomal fraction에서 glutathione의 함량과 MDA의 함량을 측정하였고, cytosolic fraction을 이용하여 SOD 생성저해 효과와 NO 함량을 측정하였으며, mitochondrial fraction에서 catalase의 활성을 측정하였다(Scheme I).

SOD는 활성산소 scavenger로서 산소 대사과정에서 가장 먼저 생성되는 산소라디칼을 제거하는 酵素이며^{59,60)}, glutathione은 모든 조직에 분포하여 세포의 유지 및 생존에 필수적인 방어기구를 수행하며, 특히 방사선 장애에 대한 방어, 세포막의 유지, 효소의 SH기의 유지, 이물질의 해독 등 생명유지에 중요한 작용을 하고 있으며⁶¹⁾, glutathione peroxidase는 glutathione을 산화시키는 과정에서 hydrogen peroxidase나 lipid peroxidase 등을 제거하는 효소이다⁶²⁾.

Catalase는 세포내에서 과산화수소를 제거하는 효소로 생체내의 모든 주요 기관에 존재하며, 특히 간장과 적혈구에 많이 분포한다⁶³⁾.

本 實驗에서 肝과 脾에서 抗酸化 효소인 SOD와 GSH 및 catalase의 농도를 측정된 결과 肝에서 SOD는 ST₃₆에서 control과 sham에 비하여 약간 높은 활성을 나타내었으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 11).

GSH는 ST₃₆에서 control과 sham에 비하여 높은 함량을 나타내었으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 12).

Catalase는 control 과 Sham 및 ST₃₆에서 normal에 비하여 유의한 감소를 나타내었으며($p < 0.001$, $p < 0.01$), ST₃₆에서는 control에 비하여 有意性 있게 ($p < 0.01$) 增加하였다(Fig. 13).

脾에서는 SOD는 normal에 비하여 control과 sham의 SOD 활성도가 감소하였으나 통계적 有意性은 없었으며, ST₃₆은 control에 비하여 증가하였으나 통계적 有意性은 없었다(Fig. 16).

GSH는 control과 sham에서 normal에 비하여 有意性 있게($p < 0.05$, $p < 0.01$) 減少하였다. ST₃₆에서는 control에 비하여 증가하였으나 통계적 有意性은 없었고, sham과 비교하였을 때에는 有意性 있게 ($p < 0.01$) 증가하였다(Fig. 17).

Catalase는 normal에 비하여 control과 sham 그리고 ST₃₆에서 유의적으로($p < 0.001$) 감소한 것을 확인할 수 있었다. ST₃₆은 control에 비하여 有意性 있게 ($p < 0.001$) 增加하였다(Fig. 18).

以上에서 肝과 脾에서 抗酸化 효소인 SOD와 GSH 및 catalase의 농도를 측정된 결과 ST₃₆에서 SOD와 GSH는 control이나 sham에 비하여 增加하였고 catalase도 control에 비하여 有意性 있게 增加하였는데, 이는 足三里 電鍼이 유해한 過酸化물이 體内に 蓄積되는 것을 막아주는 酵素의 活性을 증강시키는 效能이 있어 抗酸化를 통한 老化防止에 效果가 있는 것으로 思料된다.

NO는 무기저분자 radical로서 매우 不安定하며, 反

應性이 강한 물질로서 생체내에서 神經傳達機能, 血液凝固 및 血壓調節機能, 癌細胞에 대항하는 免疫機能 등에서의 역할이 알려지고 있다. NO는 病理的 血管擴張, 細胞毒性, 組織損傷 등 生體에 有害한 作用을 나타내고, 炎症狀態에서 血管 透過性, 浮腫 등 炎症反應을 促進시키고, cyclooxygenase를 活性化하여 prostaglandin과 같은 炎症媒介體의 生合成을 촉진하여 炎症을 심화시키는 것으로 알려져 있다⁶⁴⁾.

脂質過酸化物質의 生成경로는 고도의 不飽和脂肪酸(RH)으로부터 O_2^- , OH^- 등의 反應性이 강한 자유기가 수소를 탈취함으로써 fatty acid radical(ROO $^-$)을 生成하고, peroxy radical은 다시 인접한 부위에 있는 탄화수소와 연쇄적으로 반응하면서 결국 脂質過酸化物質(hydroperoxide, ROOH)을 形成한다⁶⁵⁾. 多價不飽和脂肪酸는 直接的 또는 間接的으로 過酸化過程을 통해 분해되어 결과적으로 MDA를 形成한다. 이 物質은 蛋白質의 제1차 아미노그룹과 격렬하게 반응할 수 있기 때문에 細胞膜에 결합된 酵素의 活性도를 떨어뜨리거나 脂質層의 단단한 견고성을 증가시킨다⁶⁶⁾. 이러한 不飽和脂肪酸과의 반응은 연쇄적으로 일어나 계속적으로 많은 free radical 형성을 유도하므로, 不飽和脂肪酸의 酸化는 세포내에서 일어나는 free radical 형성 반응으로 가장 중요하게 생각되어진다.

本 實驗에서 肝과 脾에서 NO와 MDA의 生成抑制效果를 測定한 結果 肝에서 NO는 normal에 비하여 control과 sham에서는 미세한 감소를 나타냈으나 통계적 有意성을 나타내지는 않았으며, ST₃₆에서는 normal, control 그리고 sham에 비하여 有意性 있게 ($p < 0.001$) 減少하는 것을 확인 하였다(Fig. 14).

MDA는 normal에 비하여 sham에서 有意性 있게 ($p < 0.05$) 增加하였으며, ST₃₆에서는 control과 sham에 비하여 減少하였으나 통계적 有意성을 나타내지는 않았다(Fig. 15).

脾에서는 NO는 normal에 비하여 control과 sham에서 미세한 감소를 확인하였으며, ST₃₆에서는 control과 sham에 비하여 약간 減少하였으나 통계적 有意성은 없었다(Fig. 19).

MDA는 control과 sham 그리고 ST₃₆은 normal에 비하여 有意性 있게 ($p < 0.01$) 增加하였으며, ST₃₆은 control 및 sham에 비하여 有意性 있게 ($p < 0.01$, $p < 0.05$) 減少하였다(Fig. 20).

以上에서 酸化物質인 NO와 MDA의 함량을 측정 한 결과 肝과 脾에서 NO와 MDA 모두 ST₃₆에서

control과 sham에 비하여 減少를 나타내었다. 이는 足三里 電鍼이 자유라디칼을 抑制함으로써 細胞損傷을 抑制하여 혈중에 酸化生成物의 生成을 減少시키는 效能이 있어 老化防止에 效果가 있는 것으로 思料된다.

면역은 세포의 분화와 증식과정 또는 염증기전에 다양한 액성 인자가 중요한 역할을 하고 있는데, 세포가 만드는 세포간의 signal 전달에 관여하는 액성 인자를 cytokine이라 하고 이 중에서 백혈구와 백혈구 사이에서 signal을 전달하는 인자를 interleukine(IL)이라 한다. IL-1 β , IL-6, TNF- α 는 대표적인 염증유발 cytokine으로 synovial 세포에서 과잉생산되어 synovial 세포에의 증식을 촉진시킨다. IL-4와 IFN- γ 는 활성화된 T임파구에서 생성되어 IL-4는 B 임파구를 활성화 시키며, IFN- γ 는 대식세포의 활성화에 관여하며 IL-2 및 IL-4의 생산을 억제하고, macrophage scavenger receptor의 발현과 활성을 억제시키는 기능을 가지고 있어 외부침입자와 후천성 면역 등에 대한 숙주의 방어에 중심적 역할을 가진다⁶⁷⁻⁶⁹⁾.

이와 같이 여러 가지 cytokine 중에서 IL-4, IL-6와 IFN- γ 는 상호 길항적으로 免疫을 調節하는 작용이 있어 본 實驗에서 대표적으로 IL-4, IL-6와 IFN- γ 를 측정하여 足三里 電鍼의 免疫學的 的의를 관찰 하였다.

IL-4는 control에서 normal에 비하여 有意性 있게 ($p < 0.05$) 增加하였으며 ST₃₆에서는 control에 비하여 減少하였으나 통계적 有意성은 없었다(Fig. 21).

IL-6는 control과 sham에서 normal에 비하여 有意性 있게 ($p < 0.01$, $p < 0.001$) 增加하였으며, ST₃₆에서는 normal에 비하여 有意性 있게 ($p < 0.05$) 增加하였으나 sham과 비교하였을 때에는 有意性 있게 ($p < 0.05$) 減少하였다(Fig. 22).

IFN- γ 는 control과 sham에서 IFN- γ 가 normal에 비하여 有意性 있게 ($p < 0.01$) 減少하였으며, ST₃₆에서는 control에 비하여 有意性 있게 ($p < 0.05$) 增加하였다(Fig. 23).

本 實驗에서 脾臟細胞에서 cytokine을 측정한 결과 ST₃₆에서 IL-4는 control에 비해서 약간의 減少가 있었고 IL-6는 sham에 비하여 有意하게 減少하였으며, IFN- γ 는 control과 비교하여 有意性 있게 增加하였는데, 이는 足三里 電鍼이 脾臟細胞에 대해서도 우수한 免疫調節 作用을 나타내는 것으로 思料된다.

以上の 結果를 綜合해 보면 足三里 電鍼은 활성화

소에 대한 耐性を 점차 增加시키며, 肝臟과 脾臟에서 혈청 항산화효소의 減少를 抑制하여 血中脂質이나 蛋白質의 酸化生成物の 增加를 抑制시키며, 免疫力을 調節하는 效果가 있는 것으로 생각되어 향후 持續的인 研究가 필요할 것으로 思料된다.

V. 結 論

足三里 電鍼의 抗老化作用을 立證하고자 hematology와 blood chemistry를 분석하고, 肝과 脾臟組織을 分割하여 SOD, glutathione, catalase, NO 및 MDA 함량을 측정하고, 脾臟細胞에서 cytokine을 측정하여 다음과 같은 結課를 얻었다.

1. Hematology 분석에서 PLT 수는 ST₃₆에서 control과 sham에 비하여 有意性 있게 減少하였다.
2. Blood chemistry 분석에서 glucose와 ALP는 ST₃₆에서 control에 비하여 有意性 있게 減少하였다.
3. 肝에서 抗酸化 酵素를 측정한 결과 catalase는 ST₃₆에서 control에 비하여 有意性 있게 增加하였다.
4. 肝에서 酸化物質인 NO는 ST₃₆에서 normal, control, sham에 비하여 有意性 있게 減少하였다.
5. 脾에서 抗酸化 酵素를 측정한 결과 ST₃₆에서 GSH는 sham에 비하여 有意性 있게 增加하였으며, catalase는 control에 비하여 有意性 있게 增加하였다.
6. 脾에서 酸化物質인 MDA는 ST₃₆에서 control과 sham에 비하여 有意性 있게 減少하였다.
7. 脾臟細胞에서 cytokine을 측정한 결과 ST₃₆에서 IL-6는 sham에 비하여 有意性 있게 減少하였으며, IFN- γ 는 control과 비교하여 有意性 있게 增加하였다.

以上の 結果로 足三里 電鍼은 활성산소에 대한 耐性を 점차 增加시키며, 항산화효소의 減少를 抑制하여 血중에 酸化生成物の 增加를 抑制시키며, 免疫力

을 調節하는 效果가 있으므로 抗老化效果가 있는 것으로 思料된다.

VI. 參考文獻

1. 李哲沆 外. 老人性疾患의 東西醫學的考察. 서울 : 韓國物理療法科學會誌. 1983 ; 1 : 4, 5.
2. 배철영, 이영진. 老人醫學. 서울 : 高麗醫學. 1996 ; 21, 25-27.
3. 리정복, 장수학. 서울 : 醫聖堂. 1987 ; 11-99, 492-576.
4. 杜鎬京. 東醫腎系學. 서울 : 東洋醫學研究院. 1993 ; 1093-1100, 1325-1383.
5. 최용태 외. 침구학 上. 서울 : 집문당. 1998 ; 362-384.
6. 安榮基. 經穴學叢書. 서울 : 成輔社, 2002 ; 196, 197.
7. 金庚植, 李任根. 鍼灸配穴辭典. 서울 : 一中社. 1991 ; 141-143.
8. Harman D. Aging. A theory based on free radical radiation chemistry, J Gerontol. 1956 ; 11 : 298-300.
9. Korhonen P, Helenius M, Salminen A. Age-related changes in the regulation of transcription factor NF-kappa B in rat brain. Neurosci. Lett. 1997 ; 225 : 61-64,
10. Medvedev, ZA. An attempt at a rational classification of theories of aging. Biol Rev. 1990 ; 65 : 375-398.
11. Papaconstantinou J. Unifying model of the programmed (intrinsic) and stochastic (extrinsic) theories of aging: The stress response genes, signal transduction-redox pathways and aging. Ann NY Acad Sci. 1994 ; 719 : 195- 211.
12. 안봉진, 이진태, 김상찬. 한약재를 가미한 녹용 추출물의 생리활성에 관한 연구. 方劑學會誌. 2001 ; 9(1) : 335-354.
13. 梁起溟. 石斛의 抗酸化 效果. 大韓本草學會誌. 2005 ; 20(4) : 53-60.
14. 吳源雨. 黃芩의 抗酸化 效果. 大韓本草學會誌.

- 2005 ; 20(3) : 67-74.
15. 金賢熙. 牡丹皮의 PC12 cell 酸化抑制 效果 및 neuronal 유전자 발현 profile 分析에 대한 연구. 東醫生理病理學會誌. 2003 ; 17(3) : 719-727.
 16. 朴星俊. 覆盆子가 老化誘發 흰쥐의 抗酸化能에 미치는 影響. 大韓豫防韓醫學會誌. 2004 ; 8(1) : 75-87.
 17. 金敬昊. 山查가 老化誘發 흰쥐의 抗酸化能에 미치는 影響. 大韓豫防韓醫學會誌. 2004 ; 8(2) : 65-80.
 18. 朴成敏. 補中益氣湯과 六味地黃湯이 노화촉진 생쥐의 간장내 항산화작용에 미치는 영향. 大韓本草學會誌. 2003 ; 18(4) : 175-191.
 19. 周立山. 清心蓮子湯과 太陰調胃湯이 Wistar rat의 老化에 미치는 影響. 大田大學校 韓醫學研究所 韓醫學論文集. 2004 ; 13(2) : 337-345.
 20. 崔蕊媛. 八物君子湯과 十二味寬中湯이 Wistar rat의 老化에 미치는 影響. 大田大學校 韓醫學研究所 韓醫學論文集. 2004 ; 13(2) : 317-326.
 21. 朴진성 外. 不老丸을 投與한 흰쥐 腦의 抗酸化 效果에 관한 研究. 大韓豫防韓醫學會誌. 2001 ; 5(1) : 90-102.
 22. 吉浩植. 延年益壽不老丹이 老化誘發 흰쥐의 抗酸化能에 미치는 影響. 大韓豫防韓醫學會誌. 2002 ; 6(2) : 112-127.
 23. 허준영. 十全大補湯의 抗老化作用에 대한 研究. 東醫生理病理學會誌. 2003 ; 17(2) : 356-362.
 24. 곽병준. 瓊玉膏가 老化誘發 흰쥐의 抗酸化能에 미치는 影響. 大韓豫防韓醫學會誌. 2002 ; 7(2) : 85-96.
 25. 李晟源. 何首烏丸이 老化誘發 白鼠의 抗酸化能에 미치는 影響. 大韓豫防韓醫學會誌. 2004 ; 8(1) : 115-133.
 26. 李鍾武. 澤瀉 藥鍼의 抗酸化效果에 관한 實驗的 研究. 大韓鍼灸學會誌. 2003 ; 20(1) : 159-162.
 27. 朴상동, 김민정, 이아람, 장준혁, 김경호. 류마티스 關節炎 實驗用 쥐의 활액에서 단백질분해 효소의 活性 및 抗酸化에 대한 鹿茸藥鍼의 效果. 大韓鍼灸學會誌. 2002 ; 19(2) : 51-64.
 28. 金首將. 鎖陽藥鍼의 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究. 大田大學校 大學院. 2001.
 29. 金英和. 肉苳蓉藥鍼의 抗酸化作用에 관한 實驗的 研究. 大田大學校 大學院. 2001.
 30. 김정신. 足三里 電鍼刺戟이 알러지모델 생쥐의 免疫能에 미치는 影響 및 기전에 관한 研究. 大韓鍼灸學會誌. 2005 ; 22(3) : 23-35.
 31. 권순철. 足三里(ST₃₆) 電鍼 刺戟이 EEG에 미치는 影響. 大韓經絡經穴學會誌. 2006 ; 23(1) : 15-36.
 32. 박성익. 足三里 電鍼이 白鼠의 膝關節炎 痛症에 미치는 影響. 大韓經絡經穴學會誌. 2004 ; 21(1) : 113-127.
 33. 김영일, 김영화, 임윤경, 이현, 이병렬, 김연진. 족삼리 전침자극이 fMRI상 뇌활성 변화에 미치는 영향. 大韓鍼灸學會誌. 2003 ; 20(5) : 133-150.
 34. 백용현. Adjuvant 誘發 關節炎에 대한 電鍼刺戟의 鎮痛效果 및 그 기전에 관한 研究. 大韓鍼灸學會誌. 2003 ; 20(3) : 117-130.
 35. 魯三熊. 足三里 전침자극에 의한 흰쥐 hypothalamus의 유전자 발현 profile 분석. 大韓東醫生理學會誌. 2004 ; 18(4) : 1041-1054.
 36. 김일두. 足三里 電鍼刺戟이 뇌혈류에 미치는 影響에 관한 血液學的 考察. 大韓鍼灸學會誌. 2001 ; 18(2) : 18-26.
 37. Barber AA, Rankin CT Jr, Anderson NG. Lipid peroxidation in rat tissue particulates separated by zonal centrifugation. Natl Cancer Inst Monogr. 1966 ; 21 : 333-44.
 38. Barber AA and Bernheim F. Lipid peroxidation : its measurement, occurrence, and significance in animal tissues. Adv Gerontol Res. 1967 ; 2 : 355-403.
 39. Aebi H Catalase. In : Methods of enzymatic analysis, edited by Bergmeyer, HU. Academic Press, New York. 1974 ; 673.
 40. 통계청. 통계소식 제161호. 2005 ; 4, 5.
 41. 대한노인병학회. 노인병학. 서울 : 의학출판사. 2002 ; 18-27.
 42. 徐舜圭. 成人病·老人病學. 서울 : 高麗醫學. 1992 ; 10-13.
 43. 高仁錫. 노화는 왜 일어나는가. 서울 : 電波科學社. 1991 ; 143, 144.
 44. 白上龍. 老化에 대한 研究. 大韓韓醫學原典學會誌. 1999 ; 12(2) : 175-183.
 45. 河北醫學院. 靈樞經校釋 (下). 北京 : 人民衛生

- 出版社. 1982 ; 126.
46. 山東中醫學院, 河北醫學院. 黃帝內經素問校釋. 北京 : 人民衛生出版社. 1980 ; 7, 8, 83, 84.
 47. 虞博. 醫學正傳. 서울 : 成輔社. 1986 ; 9.
 48. 李東垣. 東垣十種醫書. 서울 : 대성출판사. 1991 ; 72.
 49. 全國韓醫科大學脾系內科學教授. 脾系內科學. 서울 : 그린문화사. 1991 ; 3.
 50. 全國韓醫科大學肝系內科學教授. 肝系內科學. 서울 : 東洋醫學研究院出版社. 1995 ; 24-28.
 51. 서울대학교 의과대학편. 내분비학. 서울 : 서울대학교출판부. 1986 ; 227-229.
 52. Niki E, Yamamoto Y, Komuro E, Sato K. Membrane damage due to lipid oxidation. *Am J Clin Nutr.* 1991 ; 53 : 201.
 53. Forman H J, Boveris A. Superoxide radical and hydrogen peroxide in mitochondria, In *Free radicals in biology*, Vol 5, Edited by Pryor WA. New York : Academic Press. 1982 ; 65-90.
 54. Cohen G. The generation of hydroxyl radicals in biological system. *Photobiol.* 1978 ; 28 : 669-675.
 55. Kellogg EW 3rd, Fridovich I. Liposome oxidation and erythrocyte lysis by enzymically generated superoxide and hydrogen peroxide. *J Biol Chem.* 1977 ; Oct10 ; 252(19) : 6721-6728.
 56. Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L and Randall R J. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951 ; 193 : 265-275.
 57. Harman D. Free radical theory of aging : Role of free radicals in the organization and evolution of life, aging and disease process. *Free Radicals, Aging and Degenerative Disease*(ed. Johnson, J. E. et al.). New York : Alan R Liss inc. 1986 ; 3-49.
 58. 이귀녕, 권오현. 임상병리파일. 서울 : 의학문화사. 2003 ; 125-130, 331-337.
 59. Borug EL, Fournier D. Is Lifespan Extension Accompanied by Improved Antioxidant Defences? A Study of Superoxide Dismutase and Catalase in *Drosophila Melanogaster* Flies that Lived in Hypergravity at a Young Age. *Biogerontology.* 5(4) : 2004 ; 261-266.
 60. Kubota Y, Takahashi S, Sato H. Significant contamination of superoxide dismutases and catalases with lipopolysaccharide-like substances. *Toxicology in vitro.* 2004 ; 18(5) : 711-718.
 61. Sakamoto Y, Higashi T. Glutathione. *Japan scientific societies.* 1989 ; 5.
 62. Ozturk O, Gumuslu S. Changes in glucose-6-phosphate dehydrogenase, copper, zinc-superoxide dismutase and catalase activities, glutathione and its metabolizing enzymes, and lipid peroxidation in rat erythrocytes with age. *Experimental gerontology.* 2004 ; 39(2) : 211-216.
 63. Al-Omar M. Free Radicals in Biology and Medicine. Third Edition. *Saudi pharmaceutical journal.* 2003 ; 11(4) : 207.
 64. 류재하, 장세란, 이소영, 이화진, 한용남. 활성화한 RAW 264.7 세포주에서 인삼 Polyacetylene 류의 Nitric Oxide 生成沮害. *J Gienseng Res.* 1998 ; 22(3) : 181-187.
 65. 배기채. 高麗人蔘, 高麗紅蔘 및 total saponin의 抗酸化 作用. 大田大學校 大學院. 1997.
 66. 김영곤 외. 프리라디칼. 서울 : 여문각. 1997 ; 455, 564.
 67. 中島 泉. 신면역학입문. 지구문화사. 1997 : 63, 118-128, 175-187, 258, 259.
 68. 서울대학교 의과대학편. 면역학. 서울 : 서울대학교출판부. 1997 : 100-131, 179, 180, 253-269.
 69. 서울대학교 의과대학편. 중양학. 서울 : 서울대학교출판부. 1992 : 188, 189, 228, 229.