

하고초 약침이 LPS로 유발된 급성염증 백서 모델에 미치는 영향

이종욱¹, 이향숙¹, 이은², 이준무^{1*}

¹상지대학교 한의과대학 경락경혈학교실, ²상지대학교 보건과학대학 제약공학과

Effects of *Prunella vulgaris* Pharmacopuncture on Lipopolysaccharide-Induced Acute Inflammatory Rat Model

Jong Wook Lee¹, Hyang Sook Lee¹, Eun Lee², Joon Moo Lee¹

¹Dept. of Meridian & Acupoint, College of Korean Medicine, Sangji university
²Dept. of Pharmaceutical Engineering, College of Health Science, Sangji university

Abstract

Objectives : To investigate the anti-inflammatory effects of *Prunella vulgaris* pharmacopuncture in lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory rat model.

Methods : Sprague-Dawley rats were divided into 5 groups; normal control (n=8), LPS control (n=8), LPS+*Prunella vulgaris* pharmacopuncture at CV4 (CV4, n=8), LPS+*Prunella vulgaris* pharmacopuncture at ST36 (ST36, n=8), and LPS+*Prunella vulgaris* pharmacopuncture at CV12 (CV12, n=8). Pharmacopuncture was given every two days for 4 weeks followed by inflammation induction by peritoneal LPS injection (5mg/kg). Proinflammatory cytokines including interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-10 (IL-10), thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) from blood and liver tissue were compared before and 5 hrs after inflammation induction.

Results : In CV4 and CV12 groups, plasma IL-1 β , IL-6 and TNF- α levels increased by LPS injection, significantly decreased 5 hrs after injection (p<0.05). For CV12 group, plasma IL-10 concentration significantly increased (p<0.05). Liver IL-1 β and IL-6 levels significantly decreased in CV4 and CV12 groups (P<0.05), while normal and LPS control groups were not significantly different in TNF- α and IL-10 levels. Plasma TBARS concentration was significantly decreased in CV12 group, while there was no significant difference among LPS control and pharmacopuncture groups for liver TBARS concentration.

Conclusions : Based on the present findings, *Prunella vulgaris* pharmacopuncture at CV12 may have a potentially preventive anti-inflammatory effect in an LPS-induced inflammatory rat model.

Key words : pharmacopuncture; *Prunella vulgaris*; anti-inflammation; CV12

1. 서 론

생체 조직에 위해인자가 작용할 경우 국소적 방어반응현상으로 발적, 종창, 발열, 동

통, 기능장애 등의 증상을 동반한다. 염증은 생체세포와 조직 등에 변화를 주는 요인에 대한 생체반응으로 국소세포조직의 수동적 변화와 순환장애, 특히 혈관 내 혈장이나 혈구가 그 자리에 비정상적으로 나타나는 삼출과 그 부위의 세포증식 등이 임상적 증후로 나타난다¹⁾. 따라서 다양한 염증성 질환

· 교신저자: 이준무, 강원도 원주시 우산동 660번지 상지대학교 한의과대학 경락경혈학교실, Tel. 033-730-0662, E-mail : jmllee@sangji.ac.kr

· 투고 : 2009/08/31 심사 : 2009/09/11 채택 : 2009/09/21

들의 치료는 근본적으로 염증억제, 즉 소염에서 시작되며 최근 부작용이 없고 효능이 우수한 소염치료법을 개발하고 있는데 현재 사용되는 대부분의 소염제들은 장기복용할 경우 출혈성 위장관궤양, 신기능저하 및 혈압상승, 심근경색 및 혈전형성 등의 순환계 질환도 유발할 수 있다고 하여²⁾ 소염제의 효능과 안전성을 개선할 필요성이 대두되었다.

한의학에서는 諸痛瘡瘍, 皆屬於火라 하여 모든 瘡瘍은 火에서 비롯된다고 하였다. 炎症反應은 火를 동반하여 나타나는 현상으로 瘀血, 痰飲, 氣鬱 등의 생체위해조건이 지속되면 化火하여 內火로서 작용하여 이것이 생체 스트레스 및 각종 질환의 병인으로 작용할 수 있다고 하여, 炎症은 瘡瘍으로 인해 발생하는 生體反應이며, 火를 동반한다고 했다.^{3,4)}

한편 夏枯草(*Prunella vulgaris*)는 꿀풀과의 여러해살이풀 꿀풀의 지상부로 성미는 苦辛, 寒하고 淸肝火, 散鬱結, 降血壓하는 효능이 있어 肝熱과 痰火가 鬱結되어 나타나는 瘰癧, 癭瘤, 目赤腫痛과 頭痛, 眩暈 등의 증에 상용된다. 또 oleanolic acid, ursolic acid, rutin, hyperoside, cis- 및 transcaffeic acid, vitamin, carotenoid, tannin 및 유기산 등의 기능성 물질들도 많이 함유한 것으로 알려져 있다⁵⁾. 또한 한편 약침은 약물과 자극효과를 동시에 응용할 수 있는 치료법으로 적응증이 다양하고 효과가 빠르며 약물을 복용하기 힘든 환자에게 편리한 장점이 있다⁶⁾.

본 연구에서는 소염효과가 탁월하면서 부

작용이 없는 새로운 염증치료법을 개발하기 위해 夏枯草 약침의 처리가 급성 염증을 유발한 흰쥐의 혈액 및 간장의 전염증성 사이토카인(proinflammatory cytokines)에 미치는 영향을 검토하여 유의한 결과를 얻어 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험동물

평균체중이 198.21±5.47g인 Sprague-Dawley계의 숫컷 40두를 일주일간 실험식이(Table 1) 및 환경에 적응시킨 후, 각 군당 8두씩 평균체중이 유사하게 임의 배치하였다. 식이 및 물은 실험기간 동안 자유 급여하였다 (Table 1).

Table 1. Composition of experimental diet.

Ingredients	Composition (%)
Casein	20.0
α-Corn starch	35.0
Sucrose	11.0
Lard	4.0
Corn oil	1.0
Mineral mix ¹⁾	3.5
Vitamin mix ²⁾	1.0
Cellulose powder	23.5
DL-methione	0.3

¹⁾Mineral mix (g/kg diet): CaCO₃, 29.29; CaHPO₄·2H₂O, 0.43; KH₂PO₄, 34.30; NaCl, 25.06; MgSO₄·7H₂O, 9.98; Ferric citrate hexahydrate, 0.623; CU₂(SO₄)₂·5H₂O, 0.516; MnSO₄·H₂O, 0.121; ZnCl₂, 0.02; KI, 0.005; (NH₄)₆ MO₇O₂₄·4H₂O, 0.0025.

²⁾Vitamin mix (mg/kg diet): thiamine-HCl, 12; riboflavin, 40; pyridoxin-HCl, 8; vitamin-B12, 0.005; ascorbic acid, 300; D-biotin, 0.2; menadione, 52; folic acid, 2; D-calcium pantothenate, 50; P-aminobenzoic acid, 50; nicotinic acid, 60; Cholin chloride, 2000 (IU/kg diet); Rethinyl acetate, 5000 (IU/kg diet); Cholecalciferol, 50 (IU/kg diet).

2. 약침액의 조제

약재는 원주 시내의 약업사에서 정선된 약재를 구입하여 사용하였다. 엄선된 100g의 夏枯草 약재를 둥근 flask에 2ℓ의 증류수와 함께 넣어 수증기 증류법으로 1600ml의 증류액을 만든 후, 냉각, 여과하고, 이 여액을 100ml되게 감압, 농축하여, pH 7로 조정, 냉장보관하여 사용하였다.

3. 실험군 및 약침처리

실험실 환경에 적응시킨 흰쥐들은 아무 처리도 하지 않은 정상군(normal group), lipopolysaccharides (LPS)로 급성 염증을 유발한 대조군(control group)과 세 가지 종류의 실험군으로 모두 5개 군으로 나누었다. 정상군과 대조군을 제외한 3개 실험군들은 4주 동안, 격일로 오후 7시에 각 처리군 별로 약침을 시술하였고 이 후에 대조군과 마찬가지로 LPS로 급성 염증을 유발하였다. 처리 1군(T I)은 關元(CV4), 처리 2군(T II)은 足三里(ST36), 처리 3군(T III)은 中脘(CV12)에 각각 夏枯草 약침을 시술하였다. 위의 방법으로 조제한 약침액 원액을 1cc 주사기(26G, 1/2 inch, (주)한국백신, 한국)로 0.2cc씩 경혈에 주입하였다. 처리시의 스트레스를 줄이기 위해 1.5m의 합판에 10개의 보정축을 설치한 보정틀을 제작하여 이용했다. 취혈은 인체의 關元(CV4), 足三里(ST36) 및 中脘(CV12)에 상응하는 부위를 WHO의 표준경혈정위법⁷⁾의 방법에 준해 취혈하였다.

4. 급성 염증 모델 유발

LPS 처리는 4주간의 약침처리기간이 종료된 후, 그리고 마지막 약침처리 후 약 15시간 후에 5mg/kg의 수준으로 대조군과 각 처리군 모두 동일하게 복강 주사하였다.

5. 시료채취

혈장 사이토카인 정량을 위한 혈액채취는 4주간의 약침처리가 종료된 후, LPS 처리 직전(0h), LPS 처리 후 5h째에 에테르로 마취하여 심장천자법에 의해 채혈했다. 채혈된 혈액은 원심분리(5℃, 1800G)하여 혈장을 -80℃에 냉동 보관하였다. 간장시료는 마지막 채혈을 마친 직후, 1g의 간장을 채취하여 5ml의 cold phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4, containing a protease inhibitors cocktail)과 함께 혼합하여 얼음 위에서 분쇄(homogenization)하였다. 분쇄혼합물을 4℃, 15,000 rpm, 15분간 원심분리한 후, 상층액을 0.45μm 필터로 여과하고, 다시 원심분리한 후, 간장추출물을 -80℃에 냉동 보관했다.

6. 생화학적 분석

6.1. 혈장 thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)

혈장 TBARS량은 혈장을 분리하여, 37℃에서 120분간 배양 후 Buege의⁸⁾ 방법에 의해 정량했다.

6.2. 간장 thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)

간장 TBARS량은 1-2g 정도의 간장절편을 0.9% 생리식염수로 세척하여 혈액을 제거하고, 1.15% KCl 수용액과 혼합한 후, homogenizer로 충분히 마쇄하여 10% homogenate를 만들었다. 이 중 0.1 ml의 homogenate를 취하여 screw cap tube에 넣고 8.0% sodium dodecyl sulfate 0.2 ml와 20% acetic acid solution (pH 3.5) 1.5 ml 그리고 0.8%TBA solution 1.5ml를 첨가하였다. 총 4ml가 되도록 증류수를 넣은 다음 진탕하여 95°C water bath에 넣고 1시간 동안 가열하였다. 가열한 시험관을 흐르는 수돗물에서 냉각시킨 후, 증류수 1ml와 n-butanol : pyridine (15:1, v/v) 혼합용액 5ml를 가하고 vortex하였다. 1,500xg에서 10분간 원심 분리한 후 상층액(n-butanol : pyridine층)을 채취하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 TMP (1,1,3,3-tetraamitoxyp propane)를 사용하였고, lipid peroxide 수준은 nmol MDA (malondialdehyde)로 표시하였다.

6.3. 혈장 및 간장의 싸이토카인 정량

전염증성 싸이토카인은 interleukin-1β (IL-1β), tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-6 (IL-6) 및 interleukin-10 (IL-10)을 시판 kit (Biosource International, USA)를 이용하여 정량하였다. TNF-α의 최저 측정농도는 0.7 pg/ml이며, 다른 싸이토카인들은 3-8 pg/ml이다. 간장 싸이토카인량은 5ml의 PBS에 생 간장

1g을 혼합한 조정액으로 측정하였으며, pg/mg 단위로 나타내었다.

7. 통계처리

실험결과는 SPSS package를 이용하여 one-way ANOVA검정을 수행하였으며, 각 처리군 간의 유의성 검정은 Duncan's multiple range test에 의해 p<0.05 수준에서 실시했다.

III. 결 과

1. 혈장 IL-1β 농도

LPS 처리 전(0h)에는 모든 군에서 IL-1β의 차이가 없었다. 그러나 LPS 처리 후 5h에서는 대조군을 비롯한 약침처리군 모두에서 IL-1β가 증가하였고 LPS 처리 후 5h에는 關元(CV4), 中腕(CV12) 약침처리군에서 대조군보다 유의하게 감소하였다 (Table 2).

Table 2. Effect of *Prunella vulgaris* pharmacopuncture on plasma IL-1β concentration in lipopolysaccharide-exposed rats.

Treatment	IL-1β (pg/ml), time (h)*	
	0h	5h
Normal	14.71±5.11 ^{NS}	15.38±4.29 ^a
Control	14.29±3.85 ^{NS}	267.39±31.28 ^c
T I	15.39±4.75 ^{NS}	198.41±19.21 ^b
T II	13.15±3.55 ^{NS}	219.59±20.97 ^{bc}
T III	14.12±4.06 ^{NS}	185.61±18.77 ^b

Control, intraperitoneal injection of LPS (5 mg/kg); T I, CV4 pharmacopuncture + LPS; T II, ST36 pharmacopuncture + LPS; T III, CV12 pharmacopuncture + LPS.

*, 0h, and 5h after LPS injection; ^{NS}, not significantly different (p>0.05); ^{a, b, c}, means in the same column with different superscripts are significantly different (p<0.05).

2. 혈장 IL-6 농도

LPS 처리 전(0h)에는 모든 군에서 IL-6의 차이가 없었다. 그러나 LPS 처리 후 5h에서는 대조군을 비롯한 약침처리군 모두에서 IL-6가 증가하였고, LPS 처리 후 5h에는 약침처리군 모두에서 대조군보다 유의하게 감소하였으며 中脘(CV12) 약침군이 가장 낮은 값을 나타내었다 (Table 3).

Table 3. Effect of *Prunella vulgaris* pharmacopuncture on plasma IL-6 concentration in lipopolysaccharide-exposed rats.

Treatment	IL-6 (pg/ml), time (h)*	
	0h	5h
Normal	21.75±4.19 ^{NS}	23.17±4.21 ^a
Control	22.28±3.71 ^{NS}	885.29±53.75 ^d
T I	22.08±5.11 ^{NS}	747.88±42.17 ^c
T II	27.14±3.98 ^{NS}	698.52±55.71 ^{bc}
T III	25.86±4.42 ^{NS}	625.85±50.11 ^b

Control, intraperitoneal injection of LPS (5 mg/kg); T I, CV4 pharmacopuncture + LPS; T II, ST36 pharmacopuncture + LPS; T III, CV12 pharmacopuncture + LPS.

*, 0h, and 5h after LPS injection; ^{NS}, not significantly different ($p>0.05$); ^{a, b, c, d}, means in the same column with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

3. 혈장 TNF-α 농도

LPS 처리 전(0h)에는 모든 군에서 TNF-α의 차이가 없었다. 그러나 LPS 처리 후 5h에서 대조군을 비롯한 약침처리군 모두에서 TNF-α가 증가하였으나 모든 약침처리군이 대조군보다 유의하게 감소하였으며 中脘(CV12) 약침처리군이 대조군과 유의하게 차이가 났다 ($p<0.05$). LPS 처리 후 5h에는 中脘(CV12) 약침군이 가장 낮은 값을 나타

내었다 (Table 4).

Table 4. Effect of *Prunella vulgaris* pharmacopuncture on plasma TNF-α concentration in lipopolysaccharide-exposed rats.

Treatment	TNF-α (pg/ml), time (h)*	
	0h	5h
Normal	9.71±2.47 ^{NS}	10.58± 3.09 ^a
Control	11.47±3.51 ^{NS}	779.58±51.74 ^d
T I	9.07±2.73 ^{NS}	560.88±47.29 ^{bc}
T II	13.15±2.55 ^{NS}	621.29±48.35 ^c
T III	11.75±3.14 ^{NS}	477.25±44.58 ^b

Control, intraperitoneal injection of LPS (5 mg/kg); T I, CV4 pharmacopuncture + LPS; T II, ST36 pharmacopuncture + LPS; T III, CV12 pharmacopuncture + LPS.

*, 0h, and 5h after LPS injection; ^{NS}, not significantly different ($p>0.05$); ^{a, b, c, d}, means in the same column with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

4. 혈장 IL-10 농도

LPS 처리 전(0h)에는 모든 군에서 IL-10의 차이가 없었다. 그러나 LPS 처리 후 5h에서는 대조군을 비롯한 약침처리군 모두에서 TNF-α가 증가하였고, 中脘(CV12) 약침처리군에서의 증가는 특히 대조군과 유의하게 차이가 났다 ($p<0.05$, Table 5).

5. 간장 싸이토카인 농도

TNF-α, IL-10 농도는 정상군, 대조군 및 약침처리군들 사이에 유의한 차이를 나타내지 않았다. IL-1β, IL-6는 대조군이 정상군보다 유의하게 수치가 증가되었으나, 關元(CV4), 中脘(CV12) 약침처리군에서 유의성 있게 대조군보다 감소하였다 ($p<0.05$, Table 6).

Table 5. Effect of *Prunella vulgaris* pharmacopuncture on plasma IL-10 concentration in lipopolysaccharide-exposed rats.

Treatment	IL-10 (pg/ml), time (h)*	
	0h	5h
Normal	10.05±3.27NS	9.88± 1.27a
Control	13.17±2.85NS	81.92±15.39b
T I	11.61±3.98NS	105.33±20.15bc
T II	10.44±3.21NS	97.54±15.84b
T III	9.71±2.74NS	137.59±17.15c

Control, intraperitoneal injection of LPS (5 mg/kg); T I, CV4 pharmacopuncture + LPS; T II, ST36 pharmacopuncture + LPS; T III, CV12 pharmacopuncture + LPS.

* , 0h, and 5h after LPS injection; NS, not significantly different (p>0.05); a, b, c, means in the same column with different superscripts are significantly different (p<0.05).

Table 6. Effects of *Prunella vulgaris* pharmacopuncture on concentration of liver cytokines in lipopolysaccharide-exposed rats.

Treatment	IL-1β (pg/mg)	IL-6 (pg/mg)	TNF-α (pg/mg)	IL-10 (pg/mg)
Normal	14.75±4.29 ^a	2.21±0.55 ^a	1.19±0.21 ^{NS}	1.95±0.38 ^{NS}
Control	35.84±6.29 ^f	4.39±0.48 ^f	1.75±0.44 ^{NS}	1.17±0.52 ^{NS}
T I	2.19±5.31 ^{ab}	3.15±0.62 ^{ab}	1.08±0.27 ^{NS}	1.55±0.45 ^{NS}
T II	29.44±5.27 ^{bc}	3.83±0.57 ^{bc}	1.41±0.25 ^{NS}	1.88±0.39 ^{NS}
T III	22.45±4.44 ^{ab}	3.27±0.69 ^{ab}	1.35±0.23 ^{NS}	1.72±0.51 ^{NS}

Control, intraperitoneal injection of LPS (5 mg/kg); T I, CV4 pharmacopuncture + LPS; T II, ST36 pharmacopuncture + LPS; T III, CV12 pharmacopuncture + LPS.

^{NS}, not significantly different (p>0.05); a, b, c, means in the same column with different superscripts are significantly different (p<0.05).

6. 혈장 및 간장 TBARS 농도

혈장 TBARS 농도는 대조군과 약침처리군 모두가 정상군보다 높은 값을 나타내었다. 대조군과 약침처리군 사이에서는 中脘

(CV12) 약침처리군(p<0.05)을 제외하고는 유의한 차이가 없었다. 간장 TBARS 농도는 대조군과 약침처리군 모두가 정상군보다 높은 값을 나타내었다. 그러나 대조군과 약침처리군 사이에는 통계적으로 유의한 차이가 없었다 (Table 7).

Table 7. Effects of *Prunella vulgaris* pharmacopuncture on plasma and liver TBARS concentrations in lipopolysaccharide-exposed rats.

Treatment	Plasma TBARS (nmoles MDA/ml)	Liver TBARS (nmoles MDA/g)
Normal	3.29±0.71 ^a	4.11±0.85 ^a
Control	11.25±2.52 ^e	9.26±1.33 ^b
T I	9.68±2.85 ^{bc}	7.54±1.75 ^b
T II	10.94±1.88 ^{bc}	8.18±1.36 ^b
T III	7.35±2.21 ^b	8.52±1.10 ^b

Control, intraperitoneal injection of LPS (5 mg/kg); T I, CV4 pharmacopuncture + LPS; T II, ST36 pharmacopuncture + LPS; T III, CV12 pharmacopuncture + LPS.

TBARS, thiobarbituric acid reactive substance; a, b, c, means in the same column with different superscripts are significantly different (p<0.05).

IV. 고찰

염증은 생체세포와 조직 등의 위해요인에 대한 생체반응의 표현으로 국소세포조직의 수동적 변화와 순환장애, 특히 혈관 내 혈장이나 혈구가 그 자리에 비정상적으로 나타나는 삼출과 그 부위의 세포증식을 종합한 것으로 여러 염증성 질환의 임상적 증후로 나타난다¹⁾.

기존의 연구들을 참고로 하여 본 연구에서는 소염효과를 향상시키고 부작용이 없는 염증치료법을 개발하기 위한 기초연구로 약물과 침자극 효과를 동시에 응용할 수 있는

夏枯草 약침을 처리한 흰쥐에게 LPS를 주사하여 염증모델을 유발한 후, 혈액 및 간장의 전염증성 사이토카인들과 생체 내에서 전염증성 사이토카인 생산에 직접 및 간접적으로 작용할 수 있는 생물학적 수치들을 처리군들 간에 비교, 검토하여 夏枯草 약침의 소염효과를 조사했다.

본 연구에서 선택한 급성 염증 모델은 LPS를 복강주사하여 유발하였는데 LPS는 병원균의 내독소이며 여러 종류의 염증세포 및 조직세포들에 의한 사이토카인 생산을 촉진한다는 것이 밝혀져 염증반응을 연구하는 실험모델로 많이 응용된다⁹⁾.

약침을 시술한 경혈은 關元(CV4), 足三里(ST36), 中脘(CV12)을 선택하였다; 任脈의 關元(CV4)은 배꼽아래 3寸 부위로 小腸經의 募穴이고 足三陰經과 任脈의 交會穴이며 三焦氣의 소생처로 혈성은 培腎固本, 補益元氣, 回陽固脫, 濇調血, 室精宮, 祛除寒濕陰冷, 分清別濁, 調元散邪하고, 足陽明胃經의 足三里(ST36)는 정강이거친면과 종아리뼈머리 중점에서 解谿(ST41)까지의 연결선상에서 犢鼻(ST35) 아래 3寸으로 앞정강근의 힘살 부위에 있으며 胃經의 合土穴이고 六腑下合穴, 四總穴, 中風七處穴, 回陽九針穴, 脚氣八處穴로 그 혈성은 理脾胃, 調中氣, 和腸消滯, 疏風化濕, 通調經絡, 調和氣血, 扶正培元, 祛邪防病, 強健脾胃하며, 任脈의 中脘(CV12)은 배꼽과 갈뎀통결합의 연결선의 중간점으로 배꼽 위 4寸이며 胃經의 募穴이고 八會穴 중 腑會이고 回陽九鍼穴이며 小腸經, 三焦經, 胃經, 任脈의 交會穴로 혈성은 和胃氣, 化濕滯, 理中焦, 調升降한다¹⁰⁾. 인체 면역 반

응을 精氣와 연관지어 볼 때 先天之精과는 腎, 後天之精과는 脾胃가 주로 관련된 장부이고 이들의 대표적인 경혈로 關元(CV4), 足三里(ST36)와 中脘(CV12)을 선택하였는데 이들 경혈의 공통적인 효능 가운데 補益元氣하고 理脾胃하는 작용이 면역반응에 긍정적인 작용을 할 것으로 기대하여 실험을 수행한 것이다. 실험적인 연구들로는 足三里(ST36) 자침이 급성복통을 유발한 동물 모델에서 진통효과가 있었으며 periventricular nucleus (PVN)에서 c-Fos 발현의 유의한 감소를 확인한 보고¹¹⁾, 中脘(CV12)에 蒼朮藥鍼을 시술한 결과 위염증상이 개선되었다고 보고된 바¹²⁾ 본 혈위를 선택하게 되었으며 한편 關元(CV4)에 대한 연구는 상대적으로 부족하지만 이 경혈이 補益元氣하는 효능이 있고 또한 한의학에서 면역이나 염증반응은 원기의 회복과 관련이 있다고 여겨지는 바 선택하게 되었다.

夏枯草는 한방에서 이뇨, 소염, 피부질환, 고혈압, 관상동맥경화증, 협심증, 노인성 당뇨, 항균, 항암작용 등으로 이용되고 있는 약재이며, oleanolic acid, ursolic acid, rutin, hyperoside, cis- 및 transcaffeic acid, vitamin, carotenoid, tannin 및 유기산 등의 기능성 물질들을 많이 함유하고 있다고 보고되어 있다¹³⁾. 기존의 연구들에서는 夏枯草의 메탄올 추출물의 항산화 활성을 검토하였거나¹⁴⁾, 열수추출물의 전립선염 백서에서의 세포 조직변화 및 염증성 사이토카인을 분석하는 시도가 있었고¹⁵⁾, 약침액으로는 갑상선기능저하증과 관련된 보고들이 주를 이루는 반면¹⁶⁾ 급성염증 모델에서의 효과를

본 실험적 논문은 드물다. 최근 들어 murine macrophage RAW 264.7 cell line에서 macrophage의 대식작용, nitric oxide 급성염증 모델에서의 효과를 본 실험적 논문은 드물다. 최근 들어 murine macrophage RAW 264.7 cell line에서 macrophage의 대식작용, nitric oxide 생산을 촉진하며 TNF- α , IL-1 β , IL-6와 같이 macrophage와 관련된 사이토카인들의 발현을 촉진한다는 보고가 있어¹⁷⁾ 夏枯草를 본 연구의 대상으로 삼게 되었다. 이 외에도 murine macrophage RAW 264.7 cell line에서 macrophage의 대식작용, nitric oxide 생산을 촉진하며 TNF- α , IL-1 β , IL-6와 같이 macrophage와 관련된 사이토카인들의 발현을 촉진한다는 최근 보고가 있어¹⁷⁾ 夏枯草를 본 연구의 대상으로 삼게 되었다.

실험 결과 각 처리군별 혈액 총단백질 농도 및 알부민 농도는 정상군, 대조군 및 약침처리군들 모두 상호간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 그러나 albumin/globulin 비는 대조군과 비교하여 약침처리군 모두가 높은 경향을 나타내었으며, 中脘(CV12) 약침처리군은 정상군과 유사한 1.61의 수치를 나타내었다(Table 2). 이러한 결과는 夏枯草 약침처리가 일차적으로 생체 면역계에 긍정적인 영향을 주고 있음을 시사한다.

혈장 IL-1 β 농도는 LPS 처리 전(0h)에는 모든 처리군에서 유의한 차이를 나타내지 않았으나 LPS 처리 후 5h에서 대조군을 비롯한 약침처리군 모두가 증가하였다. 이러한 변동양상은 LPS에 의한 염증유도 실험을 한 다른 연구자들의 결과와 유사했다¹⁸⁾.

LPS 처리 후 5h에 대조군보다 關元(CV4) 약침군과 中脘(CV12) 약침군이 유의하게 낮은 농도를 나타내었다(Table 2). IL-1 β 는 in vivo 나 in vitro에서 LPS 독성의 mediator로서 알려진 전염증성 사이토카인이다. IL-1 β 의 생물학적 기능은 TNF- α 와 유사하며 이들 두 사이토카인들은 여러 형태의 실험에서 상호 상가효과를 나타내는 것이 밝혀졌다¹⁹⁾. 따라서 이러한 경향은 夏枯草 약침이 면역조절능에 직접적으로 관여하고 있음을 시사한다.

IL-6는 monocytes/macrophages와 주로 간장의 Kupffer cell에서 생산되는 중요한 전염증성 사이토카인이다¹⁹⁾. LPS 처리 후 5h째에 모든 夏枯草 약침처리군에서 혈중 IL-6의 농도가 낮은 것은 夏枯草 약침의 LPS 염증억제효과를 보여준 것이며, 특히 中脘(CV12) 약침군이 가장 낮은 값을 보여 혈위에 따라 면역조절능이 다르게 나타남을 알 수 있었다(Table 3).

TNF- α 는 LPS를 비롯한 여러 가지의 자극에 반응하여 monocytes와 macrophage에 의해 방출되는 peptide mediator로¹⁹⁾, endotoxin의 제거효과를 가지는 가장 중요한 mediator로 가정되었고²⁰⁾, TNF- α 의 과잉 생산은 광범위의 pathogenic상태와 연관되므로 최근의 연구에서 생체 내에서 TNF- α 의 생산을 하락시키는 방법을 연구하고 있다²¹⁾. 본 실험 결과에서 혈장 TNF- α 의 농도는 LPS 처리 후 5h에서 대조군을 비롯한 약침처리군 모두가 급격하게 증가하였다. 그러나 LPS 처리 후 5h의 TNF- α 의 농도는 中脘(CV12) 약침군이 대조군에 비해 눈에 띄게

유의하게 감소하였으며 여타 약침군들도 LPS 처리 후 5h에 대조군에 비해 유의하게 감소한 결과를 나타내었는데 이는 기능상 유사한 IL-1 β 의 하락현상과 더불어 夏枯草 약침이 염증제어에 상당한 효과가 있음을 입증해준다. 아울러 中脘(CV12) 약침군이 다른 혈위에 약침을 시술한 것보다 더 강력한 효과를 보여주었음을 알 수 있다(Table 4).

IL-10은 lymphocytes와 macrophages에 의해 생산되는 강력한 pleiotropic anti-inflammatory cytokine이며²²⁾ T helper type 1 cells, mono/macrophages, polymorphonuclear cells에 의해서 IL-6와 TNF- α 와 같은 전염증성 사이토카인들의 합성을 억제하며, in vitro와 in vivo에서 T-cell 활성화를 감소시킨다^{22,23)}. 본 실험의 결과에서 LPS 처리 후 5h에 中脘(CV12) 약침군만이 대조군과 비교하여 유의하게 증가되어 전술한 다른 사이토카인들의 변동경향에 영향을 주었을 것으로 생각되며 혈위 특이성도 있는 것으로 추정된다(Table 5).

간장에서의 IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 농도는 정상군과 비교하여 LPS처리군 모두가 높은 수치를 나타내어 염증모델이 잘 유발되었음을 보여주었다. IL-1 β , IL-6의 농도에서도 中脘(CV12) 약침군만이 대조군에 비해 유의하게 감소하였고 TNF- α 및 IL-10 농도는 정상군과 LPS 처리군들 사이에 유의한 차이가 나지 않았다(Table 6). 肝은 IL-10의 주요 source이며 특히 강력한 cellular source는 macrophages, Kupffer cells, T and B lymphocytes와 hepatocytes이다²⁴⁾.

특히 설치류에서 IL-10은 LPS 처리 시에 Kupffer cell에서 주요 전염증성 사이토카인인 TNF- α 를 down-regulate하며, IL-6 또한 down-regulate한다^{22,25)}. 이러한 점을 고려해보면 본 실험에서 夏枯草 약침은 간장의 사이토카인 형성에 관여하였을 가능성을 시사해주며, 이러한 결과는 혈장 사이토카인들의 농도에도 영향을 주었을 것으로 사료된다.

혈장과 간장의 TBARS 농도는 LPS 처리군 모두가 정상군보다 높은 값을 나타내었으며 LPS 처리군들 사이에서는 약침처리군들이 대조군보다 대체적으로 낮은 경향을 보였다. 혈장 TBARS 농도에서 역시 中脘(CV12) 약침군만이 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 차이가 있었다(Table 7). 혈장 및 간장의 TBARS 농도는 과산화물의 축적 정도를 나타내는데²⁶⁾, 생체 내 축적된 과산화물들은 염증반응에도 관여하므로²⁷⁾ 이러한 점을 미루어보면 中脘(CV12) 夏枯草 약침의 효능이 생체 내 항산화능에도 영향을 나타내어 이러한 결과가 간접적으로 생체의 소염효과 및 면역조절에 영향을 줄 가능성을 시사한 것으로 볼 수 있다.

V. 결 론

夏枯草 약침의 소염효과를 알아보기 위하여 夏枯草 약침을 처리한 흰쥐에게 LPS를 주입하여 급성 염증 모델을 만들고 혈장과 간장의 전염증성 사이토카인들의 농도를 비교한 결과, 아래와 같은 결론을 얻었다.

혈중 IL-1 β , IL-6, TNF- α 및 IL-10 농도는 LPS 처리 후 5시간에 中脘(CV12) 약침

처리군들이 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다.

간장 싸이토카인에서는 IL-1 β , IL-6의 농도가 關元(CV4) 및 中脘(CV12) 약침처리군에서 대조군에 비해 유의하게 감소하는 결과를 얻었다.

혈장 TBARS 농도는 中脘(CV12) 약침처리군에서 대조군과 비교하여 유의하게 감소하였다.

이상의 결과들을 종합하여 볼 때 다른 경혈에 비해 中脘(CV12) 夏枯草 약침 처리가 흰쥐의 급성 염증을 완화하는 효과가 탁월한 것으로 보인다.

참고문헌

1. Male D. Cell migration and inflammation. In: Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology. 5th ed. London : Mosby. 1998 : 61-9.
2. Boumpas DT, Chrousos GP, Wilder RL, Cupps TR, Balow JE. Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: Basic and clinical correlates. Ann Intern Med. 1993 ; 119(12) : 1198-208.
3. 김현제 외 편역. 한의학사전. 서울 : 정보사. 1988 : 194.
4. 문류모. Stress에 관한 문헌적 고찰 - 현대의학을 중심으로. 동의신경정신과학회지. 1991 ; 2(1) : 38-50.
5. 전국한외과대학 본초학교수 공편저. 본초학. 서울 : 도서출판 영림사. 1991 : 169-70.
6. 대한약침학회학술위원회. 약침학. 서울 : 엘스비어코리아. 2008 : 6-7.
7. WHO standard acupuncture point locations in the western pacific region. WHO Library Cataloguing in Publication Data. 2008 : 64, 221, 225.
8. Buge JA, Austa SD. Microsomal lipid peroxidation. In: Fleicher S, Packer L. Methods in Enzymology. 1st ed. London : Academic Press. 1978 : 302-9.
9. Rook G. Immunity to bacteria and fungi. In: Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology. 5th ed. London : Mosby. 1998 : 229-32.
10. 전국한외과대학, 한의학전문대학원 경락경혈학 교재편찬위원회. 대학경락경혈학 각론(상, 하). 의방출판사. 2009 : 259, 1137, 1172.
11. 임사비나, 임형택, 박희준, 장지련, 최일환, 이석찬 외. 족삼리 침자극의 복통 억제기전연구. 대한경락경혈학회지. 2004 ; 21(2) : 69-79.
12. 김동윤, 김경호, 김갑성, 송춘호, 안창범. 胃兪穴과 中脘穴의 蒼朮水鍼이 胃炎回復效果에 미치는 影響. 대한침구학회지. 1993 ; 10(1) : 289-96.
13. 고인자, 유승조, 이은방. 한국산 하교초류의 약물학적 연구(1). 생약학회지. 1986 ; 17(3) : 232-41.
14. 이수정, 성낙주, 정혜광, 신정혜, 정영철, 서종권. 하교초 메탄올 추출물의 항산화 활성. 한국식품영양과학회지. 2008 ; 37(12) : 1535-41.

15. 한양희. 夏枯草가 만성 비세균성 전립선염 rat의 전립선세포 조직변화 및 염증관련 cytokines 발현에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2008 ; 29(2) : 71-80.
16. 이운섭. 한상원. 꿀풀과 및 댕싸리 夏枯草藥鍼이 갑상선기능항진증에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1997 ; 14(1) : 494-502.
17. Han EH, Choi JH, Hwang YP, Park HJ, Choi CY, Chung YC et al. Immunostimulatory activity of aqueous extract isolated from *Prunella vulgaris*. Food Chem Toxicol. 2009 ; 47(1) : 62-9.
18. Mathiak G, Grass G, Herzmann T, Luebke T, Zetina CC, Boehm SA et al. Caspase-1-inhibitor ac-YVAD-cmk reduces LPS-lethality in rats without affecting haematology or cytokine responses. Br J Pharmacol. 2000 ; 131(3) : 383-6.
19. Chamulitrat W, Blazka ME, Jordan SJ, Luster MI, Mason RP. Tumor necrosis factor- α and nitric oxide production in endotoxin-primed rats administered carbon tetrachloride. Life Sci. 1995 ; 57(24) : 2273-80.
20. Harbrecht BG, Di Silvio M, Demetris AJ, Simmons RL, Billiar TR. Tumor necrosis factor- α regulates in vivo nitric oxide synthesis and induces liver injury during endotoxemia. Hepatology. 1994 ; 20(4 Pt 1) : 1055-60.
21. Hamada E, Nishida T, Uchiyama Y, Nakamura J, Isahara K, Kazuo H et al. Activation of Kupffer cells and caspases-3 involved in rat hepatocyte apoptosis induced by endotoxin. J Hepatol. 1999 ; 30(5) : 807-18.
22. Thompson KC, Trowern A, Fowell A, Marathe M, Haycock C, Arthur MJ et al. Primary rat and mouse hepatic stellate cells express the macrophage inhibitor cytokine interleukin-10 during the course of activation in vitro. Hepatology. 1998 ; 28(6) : 1518-24.
23. Sang H, Wallis GL, Stewart CA, Kotake Y. Expression of cytokines and activation of transcription factors in lipopolysaccharide-administered rats and their inhibition by phenyl N-*tert*-butylnitron (PBN). Arch Biochem Biophys. 1999 ; 363(2) : 341-8.
24. Louis H, Le Moine O, Peny MO, Quertinmont E, Fokan D, Goldman M et al. Production and role of interleukin-10 in concanavalin A-induced hepatitis in mice. Hepatology. 1997 ; 25(6) : 1382-9.
25. Simpson KJ, Lukacs NW, Colletti L, Strieter RM, Kunkel SL. Cytokines and the liver. J Hepatol. 1997 ; 27(6) : 1120-32.
26. 이은, 신주옥. 과산화지질을 급여한 흰쥐에서 갈근 추출물이 혈장 및 간장의 지

질구성, 간장기능 및 항산화능에 미치는
영향. 한국자원식물학회지. 2007 ; 20(5)
: 475-80.

microsomal membrane by lipid
peroxidation. Lipids. 1973 ; 8(4) :
177-82.

27. Bidlack WR, Tappel AL. Damage to