

三陰交 전침이 노화과정 흰쥐의 항산화능 및 면역능에 미치는 영향

송종근¹, 이병렬², 양기영², 전주현³, 임윤경¹

대전대학교 한의과대학 ¹경락경혈학교실, ³침구학교실, ²부산대학교 한의학전문대학원 임상의학부

Anti-oxidative and immune-regulative Effects of Electro-acupuncture at SP6 in Aged Rats

Jong-Keun Song¹, Byungryul Lee², GiYoung Yang², Ju-Hyun Jeon³, Yun-Kyoung Yim¹

Dept. of ¹Meridian & Acupoint, ³Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Daejeon University
²Division of Clinical Medicine, School of Korean Medicine, Pusan National University

Abstract

Objective & Methods: The purpose of this study is to investigate the anti-oxidative and immune-regulative effects of electro-acupuncture(EA) at SP6(Sameumgyo) in aged rats. The author performed several experimental items including blood cell counts, blood chemistry, measurement of various oxidants and antioxidants in liver and spleen, analysis of various cytokines in spleen. The results are as follows.

Results: 1. EA at SP6 significantly reduced the number of platelets in blood. 2. EA at SP6 significantly reduced NO concentration and significantly increased catalase activity in liver. 3. EA at SP6 significantly reduced NO concentration and significantly increased SOD activity, catalase activity and glutathione concentration in spleen. 4. EA at SP6 restored the increase of IL-4, IL-6 and the decrease of IFN- γ in aged rat spleen.

Conclusion: According to these results, it is postulated that EA at SP6 has an antioxidative effect through increasing the activities of antioxidative enzymes and inhibiting production of oxidized substances, as well as an immune regulative effect in aging process. In consequence, it is presumed that EA at SP6 may have an anti-aging effect.

Key words: Sameumgyo(SP6), electro-acupuncture, anti-aging, antioxidation, immune regulation.

1. 서 론

우리나라는 2000년 65세 이상 인구비율이 7.2%로 고령화 사회에 진입하였고, 2018년 14.3%로 고령사회에, 2026년 20.8%로 초고령사회에 도달할 것으로 전망되고 있다¹⁾. 이러한 노인 인구의 증가로 노인들의 삶의

질에 대한 관심은 중요한 연구주제가 되어 노화에 대한 연구들이 많이 나오고 있다²⁻⁴⁾.

그 동안 많은 노력에도 아직 노화기전을 완전히 밝히지 못하고 있으나⁵⁾, 최근 분자 수준에서의 연구로 보다 확실한 설명을 하게 되었고, 그 중 가장 많은 지지를 받는 이론 중 하나가 환경 및 內的因子로 체내에 과산화지질이 발생하고 항산화제의 체내감소로 노화가 촉진된다는 free radical 이론이

· 교신저자: 임윤경. 대전광역시 동구 용운동 96-3 대전대학교 한의과대학 경락경혈학교실. Tel. 042-280-2610, Fax. 042-280-2611, E-mail: docwindy@dju.ac.kr
· 투고 : 2010/03/04 심사 : 2010/03/20 채택 : 2010/03/24

다^{6,7)}.

또한 노화가 진행되면 생체는 나이가 증가하면서 면역기관의 크기와 면역세포의 수가 감소하여 면역기능의 저하가 나타나며, 이에 따라 cytokine 사이의 불균형에서 초래되는 면역기능의 부적합이 발생하게 된다⁸⁾.

한의학에서는 노화를 先天의 肝腎氣運의 부족과 후천적 환경에 따른 臟腑의 쇠약이라고 인식하여, 五臟 중 肝腎 두 臟器가 老化에 직접적인 영향을 미치는 것으로 보았고^{9,10)}, 後天之精을 받아들이는 脾 또한 老化에 영향을 미친다고 보았다.

근래 노화에 대한 한의학적 연구로는, 紫河車¹¹⁾, 人蔘 및 黃芪¹²⁾ 등의 單味材를 이용한 연구, 六味地黃湯¹⁴⁾과 十二味寬中湯, 清心蓮子飲, 鹿茸大補湯 등¹⁵⁻¹⁷⁾의 韓藥處方을 이용한 연구가 있었으며, 鍼灸療法을 이용한 연구로 足三里 電鍼¹⁸⁾에 대한 연구가 있었다.

저자는 鍼灸를 이용한 항노화 요법을 고찰하던 중, 이¹⁸⁾의 연구에 사용된 足三里는 足陽明의 合土穴로 強健脾胃, 扶正培元의 효능이 있어¹⁹⁾ 後天的 脾胃氣의 쇠약에 따른 노화의 억제에 관여할 수 있을 것으로 보이나 노화의 주요 원인인 肝腎의 虛損에는 영향력이 부족할 것으로 생각되었다. 반면 足太陰脾經에 屬하고 足厥陰肝·足太陰脾·足少陰腎의 交會穴로, 노화에 가장 직접적인 영향을 끼친다고 볼 수 있는 肝腎脾를 모두 조절할 수 있고 補脾土, 助運化, 疏下焦, 調血室精宮의 효능이 있어 소화기질환 뿐만 아니라 肝腎의 부족으로 나타나는 질환 및

부인병에 다용하는 三陰交¹⁹⁾가 노화의 억제에 유효할 것이라 사료되었다.

이에 저자는 노화과정 흰쥐의 三陰交에 자침한 후, 경혈에 대한 자극을 정량화하기 위하여 전침 자극을 가하고, 三陰交 電鍼의 항노화 효과를 검증하기 위하여 혈액분석과 간장 및 비장조직에서의 glutathione, NO, MDA의 함량 및 SOD, catalase의 활성도 측정, 비장세포에서의 cytokine 측정을 통하여 항산화능 및 면역능을 관찰한 결과 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

1. 재료

1) 시약

시약명	제조사	제조국
Ethyl alcohol	Samchun Chemical	Korea
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH)		
2-Thiobarbituric acid(TBA)		
Dulbecco's phosphate buffered saline(D-PBS)		
Ethylenediaminetetra acetic acid(EDTA)		
Sodium phosphate dibasic		
Sodium phosphate monobasic		
Acetic acid	Sigma	U.S.A
Isopropanol		
Sulfanilamide		
H ₂ SO ₄		
Potassium phosphate		
Xhantine		
Phosphoric acid	Junsei	Japan
Fetal bovine serum(FBS)	Logan	U.S.A
SOD assay kit		
Glutathione kit	Dojindo	Japan
Nitric Oxide assay kit		
Lipid peroxidation assay kit	Oxford Biomedical Research	U.S.A
IL-4 ELISA kit		
IL-6 ELISA kit	Biosource	U.S.A
IFN-γ ELISA kit		

2) 기기

기기명	제조사	제조국
Pulverizer	Rong tsong	Taiwan
Rotary evaporator	Eyela	Japan
Air compressor	Tamiya	Japan
Homogenizer	OMNi	
Centrifuge	Sigma	U.S.A
Research microscope	Becton dickinson	
Fume hood	Hanil	Korea
Clean bench	Jeio thec	
Bio-freezer	Sanyo	
Spectrophotometer	Shimazu	Japan
Thermo aluminum bath	Fine PCR	
Vortex mixer	Vision Scientific Co.	Korea
Water bath	iNtRON Biotech.	
Primus 96 thermocycler system	MWG Biotech.	Germany
Plate shaker	Lab-Line	
ELISA Reader	TECAN	U.S.A
Ice-maker	Vision Scientific Co.	Korea
Electric chemical balance	MCI	Germany
Stainless steel acupuncture needle	Dong Bang Acupuncture Co.	Korea
Electric stimulator(PG-6)	Ito Co.	Japan

3) 동물

실험동물은 (주)샘타코로부터 공급받은 웅성의 6주령 Sprague-Dawley Rat(180 ± 10 g) 및 32주령의 Sprague-Dawley Rat(550 ± 10 g)을 1주일 동안 일정한 조건의 실험실 환경(온도 : 22 ± 2 °C, 습도 : 50 %, 명암 : 12시간 light/dark cycle)에서 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2. 방법

1) 실험군 설정

실험동물은 각각 정상군(normal), 대조군(control), 비혈위전침대조군(sham), 三陰交 전침군(SP6)으로 분류하였고 각 실험군은 흰쥐 8마리씩으로 하였다.

① 정상군(normal) : 7주령의 SD Rat 군

② 대조군(control) : 33주령의 SD Rat 군

③ 비혈위전침대조군(sham) : 33주령의 SD Rat에 8주간 주 2회 아크릴 홀더에 넣은 상태에서 왼쪽 둔부의 비혈위에 15분간 전침자극을 가한 군

④ 三陰交전침군(SP6) : 33주령의 SD Rat에 8주간 주 2회 아크릴 홀더에 넣은 상태에서 왼쪽 三陰交(SP6)에 15분간 전침자극을 가한 군

2) 전침

실험동물을 아크릴 홀더에 넣은 상태에서 멸균된 stainless steel 호침(diameter 0.25 mm, length 30 mm)으로 골도분층법에 준하여 인체의 三陰交到에 상응하는 부위를 취하여 약 2~3 mm 깊이로 자입하였다. 전침 자극군은 0.5 × 1 cm²의 패드를 좌측 解谿(ST41) 상응 부위에 부착한 후, 전침 자극기(PG-6)를 사용하여 2 Hz에서 근육의 수축이 육안으로 확인되는 정도로(약 6~7 mA) 강도를 조절하여 15분간 자극을 가하였다.

3) Hematology 분석

실험 종료 24시간 후 ethyl ether를 이용해 rat을 마취하고 심장채혈법으로 채혈하였다. 채취한 혈액은 CBC bottle에 넣어 RBC, WBC, PLT를 (주)이원 임상검사센터(대전. 한국)에 의뢰하여 측정하였다.

4) Blood chemistry 분석

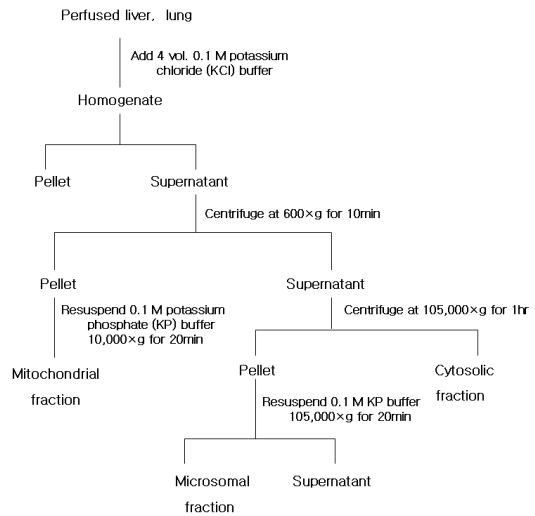
실험동물에서 채취한 혈액을 6,500 rpm 15분간 원심 분리하여 albumin, total

bilirubin, LDL cholesterol, glucose, ALP, AST, ALT를 (주) 이원 임상검사센터(대전. 한국)에 의뢰하여 측정하였다.

5) 항산화능 측정

(1) 간과 비장조직의 분획

실험동물을 ether로 마취시킨 후 복부 정 중선을 따라 절개하고 복부대동맥에서 혈액을 취하였다. 생리 식염수로 관류하여 혈액을 제거한 후 간과 비장 조직의 일부를 적출하여 여지로 혈액 및 이물질을 제거하고 Bansal 등¹⁹⁾의 방법에 의해 간 조직 1 g에 4배의 150 mM의 KCl을 가하여 homogenizer를 이용하여 균질화하였다. 균질화한 조직을 600× g에서 10분간 원심분리하여 균질화되지 않은 조직 등을 제거한 후 상등액을 10,000× g에서 20분간 원심분리하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 이 상등액을 105,000× g에서 1시간 원심분리하여 cytosolic fraction으로 그 침전물에 동일한 양의 0.1 M potassium phosphate buffer를 가하여 현탁시켜 microsomal fraction을 얻었다. Microsomal fraction은 glutathione의 함량과 MDA 함량을 측정하였고, cytosolic fraction을 이용하여 SOD 생성저해 효과와 NO 함량을 측정하였다. Mitochondrial fraction에서 catalase의 활성을 측정하였다(Scheme I).



Scheme I. Preparation of mitochondrial, microsomal and cytosolic fractions.

(2) SOD activity 측정

SOD 활성도는 SOD assay kit를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정 후 SOD 활성도를 계산하였다.

(3) Glutathione concentration 측정

조직 내 Glutathione 함량은 glutathione kit를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정해서 결과를 얻었다.

(4) NO concentration 측정

조직 내 NO 함량은 Nitro Oxide assay kit를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정해서 결과를 얻었다.

(5) MDA concentration 측정

Lipid peroxidation assay kit를 이용하여 측정하였고, 586 nm에서 흡광도를 측정한 후 MDA를 계산하였다.

(6) Catalase activity 측정

Catalase 활성도 측정은 Aebi의 방법²⁰⁾에 따라 3.0 ml cuvette에 130 nm phosphate

buffer(pH 7.0) 500 μ l, 간 분획물 40 μ l와 증류수 660 μ l를 혼합하여 기질인 15 mM H₂O₂ 농도에 의한 흡광도의 감소율을 240 nm에서 측정하였다. 효소의 활성도는 1분 동안 1 uM 의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 량을 1 unit로 표시하였다.

6) 비장에서의 cytokine 측정

(1) 세포배양

Rat의 비장조직을 적출하여 cool D-PBS로 3회 세척한 후 40 μ m nylon mesh에 갈아서 conical tube(15 ml)에 넣어 1,400 rpm에서 5분간 원심분리하고 상층을 제거한 후 ACK blood lysis sol. 2 ml를 넣고 실온에 5분 동안 방치한 후 10 ml의 D-PBS를 넣어 1,400 rpm에서 5분간 원심분리 하여 비장세포를 얻었다. 비장세포를 5% fetal bovine serum 과 antibiotics (penicillin 100 U/ml, streptomycin 100 μ g/ml)가 포함된 RPMI 1640 medium (Sigma, USA)에 넣어서 5×10^6 cells/ml 농도로 맞추고 50 μ g/ml anti-CD3/CD28 항체가 coating 되어 있는 96 well plate에 분주하여 37 °C CO₂ 배양기에서 48시간동안 배양하였다. 배양 후 원심분리 하여 상층액만을 분리하였고 상층액 중에 분비된 cytokines을 ELISA를 이용하여 측정하였다.

(2) Cytokine 측정

ELISA Kit를 사용하여 spleen cell culture supernatant에서 IL-4, IL-6 그리고 IFN- γ 를 측정하였다. 항cytokine 항체가 코팅된 96 well plate에 supernatant을 가하여

반응시킨 후 4번 세척하고, 다시 biotin이 표식된 항cytokine 항체를 가하여 반응시킨 후 4번 세척하였다. 여기에 streptavidin-HRP를 가하고 ELISA-reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 통계분석

본 실험의 결과는 각 실험군에서 얻은 데이터의 평균과 표준편차로 나타내었다. 각 실험군의 결과값 비교는 Kruskal-Wallis 검정(SPSS 12.0 KO for windows)을 시행한 후, 유의확률 $p < 0.05$ 일 경우에 한하여, Wilcoxon 부호순위 검정을 시행하였다. 실험군 간 유의확률 $p < 0.05$ 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 결과

1. Hematology

각 실험군의 혈액을 채취하여 혈구 수를 측정하였다(Table 1).

Table 1. Effect of EA at SP6 on CBC(complete blood count) in rats

Parameter	Normal	Control	Sham	SP6
RBC (10^6 cells/ μ l)	8.552 ±0.17	8.920 ±0.11	8.836 ±0.12	8.794 ±0.14
WBC (10^3 cells/ μ l)	9.652 ±1.05	6.836 ±1.56	8.104 ±1.17	8.482 ±1.71
Platelet (10^3 cells/ μ l)	515.000 ±53.64	715.000 ±105.03	661.400 ±80.01	520.800 ±40.44

The rats in the normal group were 7 weeks old and those in the control, sham and SP6 groups were 33 weeks old. The rats in SP6 and sham groups were treated with 2 Hz electro-acupuncture at left SP6 and sham point in left gluteal region respectively for 8 weeks (2 times/week). Blood samples were taken from the heart and various blood cells were counted. Values represent mean \pm S.D.(n=8).

1) RBC

각 실험군의 혈액을 채취하여 적혈구의 수를 측정된 결과, control군과 sham군에서 normal군에 비하여 적혈구 수가 유의하게 ($p<0.05$) 증가하였다. SP6군은 control군과 sham군에 비하여 약간 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 1).

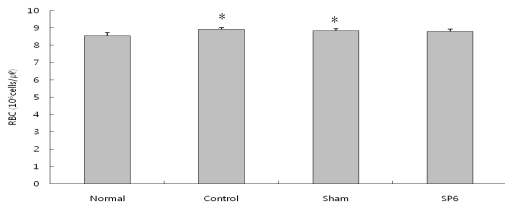


Fig. 1. Effect of EA at SP6 on the number of RBC in rat blood.

*: $P<0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.

2) WBC

각 실험군의 혈액을 채취하여 백혈구의 수를 측정된 결과, control군, sham군 및 SP6군에서 normal군에 비하여 백혈구 수가 감소하였으나 유의성은 없었다. SP6군에서는 control군과 sham군에 비하여 백혈구 수가 증가하였지만 유의성은 없었다(Fig. 2).

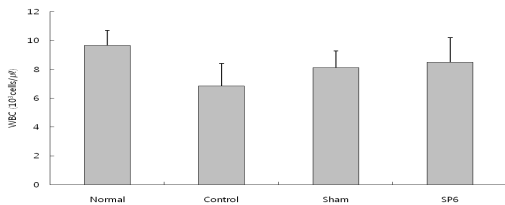


Fig. 2. Effect of EA at SP6 on the number of WBC in rat blood.

3) PLT

각 실험군의 혈액을 채취하여 혈소판의

수를 측정된 결과, control군과 sham군에서 normal군에 비하여 혈소판 수가 유의하게 ($p<0.05$) 증가하였으며, SP6군에서는 control군 및 sham군에 비하여 혈소판 수가 유의하게 ($p<0.05$) 감소하였다(Fig. 3).

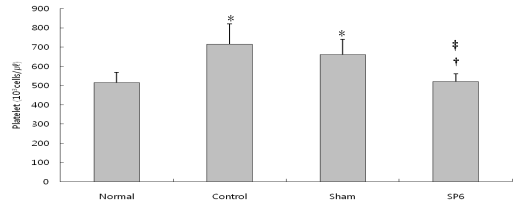


Fig. 3. Effect of EA at SP6 on the number of PLT in rat blood.

*: $P<0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test,

†: $P<0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test,

‡: $P<0.05$ compared to sham group by Kruskal-Wallis test.

2. Blood chemistry

각 실험동물의 혈액을 취하여 혈청 성분을 분석하였다(Table 2).

Table 2. Effect of EA at SP6 on various parameters in serum of rats

Parameter	Normal	Control	Sham	SP6
Albumin(g/dl)	2.51 ±0.06	2.79 ±0.09	2.81 ±0.18	2.76 ±0.08
Total bilirubin (mg/dl)	0.33 ±0.02	0.2 ±0.02	0.2 ±0.02	0.25 ±0.03
LDL-cholesterol (mg/dl)	16.80 ±1.92	36.00 ±4.18	36.60 ±5.22	31.60 ±1.67
Glucose(mg/dl)	151.40 ±15.36	116.20 ±7.79	122.20 ±3.90	129.40 ±9.45
ALP(IU/l)	237.00 ±40.32	369.80 ±45.54	328.20 ±16.86	295.20 ±53.90
AST(IU/l)	210.40 ±42.33	287.60 ±42.62	307.20 ±27.50	267.20 ±11.92
ALT(IU/l)	36.20 ±4.44	64.20 ±18.97	59.40 ±8.20	53.80 ±10.87

The rats in the normal group were 7 weeks old and those in the control, sham and SP6 groups were 33 weeks old. The rats in SP6 and sham groups were treated with 2 Hz electro-acupuncture at left SP6 and sham point in left gluteal region respectively for 8 weeks (2 times/week). Blood samples were taken from the heart and the levels of various parameters in serum were analysed. Values represent mean ± S.D.(n=8).

1) Albumin

각 실험동물에서 취한 혈청에서 albumin level을 측정 한 결과, normal군에 비하여 control군, sham군 및 SP6군에서 혈청 albumin이 유의하게($p < 0.05$) 증가하였다. SP6군에서는 control군과 sham군에 비하여 혈청 albumin이 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 4).

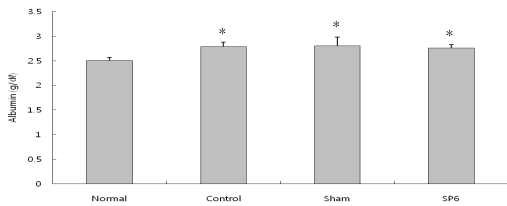


Fig. 4. Effect of EA at SP6 on serum albumin in rats.

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.

2) Total bilirubin

각 실험동물에서 취한 혈청에서 total bilirubin level을 측정 한 결과, normal군에 비하여 control군, sham군 및 SP6군에서 혈청 total bilirubin이 유의하게($p < 0.05$) 감소하였다. SP6군에서는 control군과 sham군에 비하여 혈청 total bilirubin이 증가하였지만 유의성은 없었다(Fig. 5).

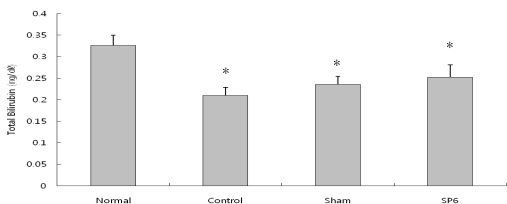


Fig. 5. Effect of EA at SP6 on serum total bilirubin in rats.

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.

3) LDL cholesterol

각 실험동물에서 취한 혈청에서 LDL cholesterol level을 측정 한 결과, normal군에 비하여 control군, sham군 및 SP6군에서 혈청 LDL cholesterol이 유의하게($p < 0.05$) 증가하였다. SP6군에서는 control군과 sham군에 비하여 혈청 LDL cholesterol이 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 6).

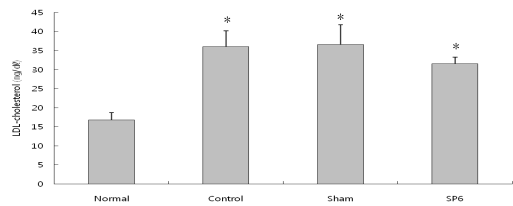


Fig. 6. Effect of EA at SP6 on serum LDL cholesterol in rats.

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.

4) Glucose

각 실험동물에서 취한 혈청에서 glucose의 양을 측정 한 결과, normal군에 비하여 control군, sham군 및 SP6군에서 혈청 glucose가 유의하게($p < 0.05$) 감소하였다. SP6군의 혈청 glucose는 control군에 비하여 유의하게($p < 0.05$) 증가하였다(Fig. 7).

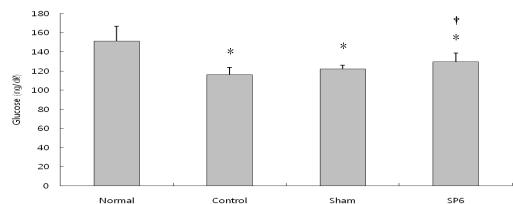


Fig. 7. Effect of EA at SP6 on serum glucose in rats.

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test,

†: $P < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test.

5) ALP

각 실험동물에서 취한 혈청에서 ALP(Alkaline phosphatase)의 양을 측정하였다. Control군 및 sham군에서 normal군에 비하여 혈청 ALP가 유의하게($p < 0.05$) 증가하였다. SP6군에서는 control군 및 sham군에 비하여 혈청 ALP가 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 8).

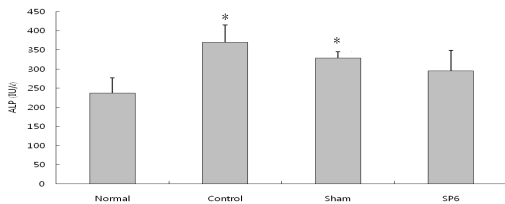


Fig. 8. Effect of EA at SP6 on serum ALP in rats.

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.

6) AST

각 실험동물에서 취한 혈청에서 AST (aspartate aminotransferase)의 양을 측정하였다. Control군 및 sham군에서 normal군에 비하여 혈청 AST가 증가하였으나 유의성은 없었다. SP6군에서는 control군과 sham군에 비하여 혈청 AST가 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 9).

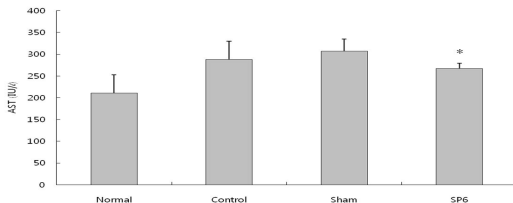


Fig. 9. Effect of EA at SP6 on serum AST in rats.

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.

7) ALT

각 실험동물에서 취한 혈청에서 ALT (alanine aminotransferase)의 양을 측정하였다. Control군, sham군 및 SP6군에서 normal군에 비하여 혈청 ALT가 유의하게 ($p < 0.05$) 증가하였다. SP6군에서는 control군 및 sham군에 비하여 혈청 ALT가 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 10).

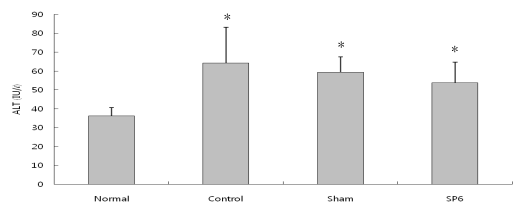


Fig. 10. Effect of EA at SP6 on serum ALT in rats.

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test.

3. 장기에서의 항산화능

1) Liver

분획한 간 조직으로부터 항산화 효과를 측정하였다(Table 3).

Table 3. Effect of EA at SP6 on various oxidants and antioxidants in rat liver

Parameter	Normal	Control	Sham	SP6
SOD activity(%)	67.78 ±12.36	50.26 ±5.98	48.14 ±8.92	61.20 ±9.25
Glutathione conc. ($\mu\text{mol}/\ell$)	131.62 ±7.61	112.62 ±10.40	108.77 ±12.45	124.99 ±5.64
NO conc.($\mu\text{mol}/\ell$)	6.72 ±1.26	12.60 ±1.55	11.25 ±0.77	8.76 ±0.73
MDA conc. ($\mu\text{mol}/\text{ml}$)	3.07 ±0.15	3.87 ±0.21	3.93 ±0.46	2.90 ±0.17
Catalase activity (U/mg)	195.06 ±35.15	29.71 ±18.08	65.92 ±21.53	117.24 ±24.91

The rats in the normal group were 7 weeks old and those in the control, sham and SP6 groups were 33 weeks old. The rats in SP6 and sham groups were treated with 2 Hz electro-acupuncture at left SP6 and sham point in left gluteal region respectively for 8 weeks (2 times/week). At the end of the experiment, the animals were sacrificed, and the liver was removed and then the levels of various oxidants and antioxidants in liver tissue were analysed by ELISA. Values represent mean \pm S.D.(n=8).

(1) SOD activity

분획한 간 조직으로부터 SOD의 활성을 측정된 결과, control군, sham군 및 SP6군에서 normal군에 비하여 SOD가 감소하였으나 유의성이 없었고, SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 SOD가 증가하였으나 유의성은 없었다(Fig. 11).

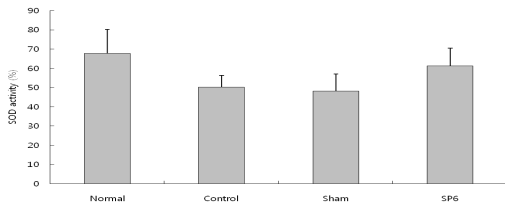


Fig. 11. Effect of EA at SP6 on liver SOD in rat liver.

(2) Glutathione concentration

분획한 간 조직으로부터 glutathione (GSH)의 함량을 측정하였다. Control군 및 sham군에서 normal군에 비하여 glutathione이 유의하게($p < 0.05$) 감소하였고, SP6군에서 sham군에 비하여 glutathione이 유의하게($p < 0.05$) 증가하였다(Fig. 12).

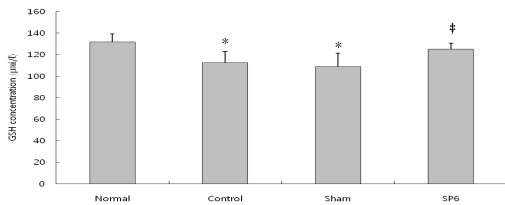


Fig. 12. Effect of EA at SP6 on glutathione level in rat liver.

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test, ‡: $P < 0.05$ compared to sham group by Kruskal-Wallis test.

(3) Nitric oxide concentration

분획한 간 조직으로부터 NO(nitric oxide) 함량을 측정된 결과, normal군에 비하여 control군, sham군 및 SP6군에서 NO 함량이 유의하게($p < 0.05$) 증가하였다. SP6군에서는 sham군 및 control군에 비하여 NO 함량이 유의하게($p < 0.05$) 감소하였다(Fig. 13).

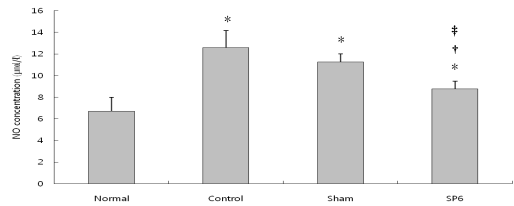


Fig. 13. Effect of EA at SP6 on NO level in rat liver.

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test, †: $P < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test, ‡: $P < 0.05$ compared to sham group by Kruskal-Wallis test.

(4) MDA concentration

분획한 간 조직으로부터 MDA (malondialdehyde) 함량을 측정된 결과, control군 및 sham군에서 normal군에 비하여 MDA 함량이 증가하였으나 유의성은 없었고, SP6군에서는 control군 및 sham군에 비하여 MDA 함량이 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 14).

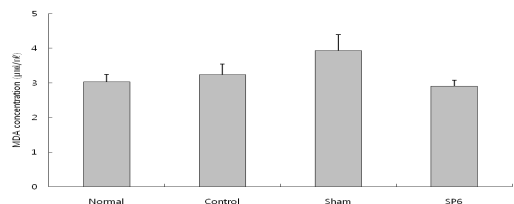


Fig. 14. Effect of EA at SP6 on MDA level in rat liver.

(5) Catalase activity

분획한 간 조직으로부터 catalase activity를 측정된 결과, control군, sham군 및 SP6군에서 normal군에 비하여 catalase 활성이 유의하게($p < 0.05$) 감소하였다. SP6군에서는 control군 및 sham군에 비하여 catalase 활성이 유의하게($p < 0.05$) 증가하였다(Fig. 15).

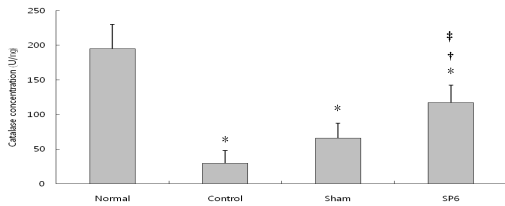


Fig. 15. Effect of EA at SP6 on catalase activity in rat liver.

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test,
 †: $P < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test,
 ‡: $P < 0.05$ compared to sham group by Kruskal-Wallis test.

2) Spleen

분획한 비장 조직으로부터 항산화 효과를 측정하였다(Table 4).

Table 4. Effect of EA at SP6 on various oxidants and antioxidants in rat spleen

Parameter	Normal	Control	Sham	SP6
SOD activity(%)	65.55 ±11.24	49.08 ±6.61	41.39 ±4.85	59.51 ±3.75
Glutathione conc. ($\mu\text{mol}/\ell$)	132.88 ±7.05	109.55 ±4.63	99.12 ±4.43	129.25 ±3.97
NO conc.($\mu\text{mol}/\ell$)	6.83 ±1.05	12.61 ±0.50	10.82 ±0.88	8.47 ±0.33
MDA conc.($\mu\text{mol}/\text{ml}$)	2.83 ±0.19	4.30 ±0.17	4.03 ±0.20	3.10 ±0.10
Catalase activity (U/mg)	151.93 ±20.83	42.05 ±17.72	66.45 ±27.18	99.26 ±13.62

The rats in the normal group were 7 weeks old and those in the control, sham and SP6 groups were 33 weeks old. The rats in SP6 and sham groups were treated with 2 Hz electro-acupuncture at left SP6 and sham point in left gluteal region respectively for 8 weeks (2 times/week). After the animals were sacrificed, the spleen was removed and the levels of various oxidants and antioxidants in spleen tissue were analysed by ELISA. Values represent mean \pm S.D.(n=8).

(1) SOD activity

실험동물의 비장 조직으로부터 SOD 활성을 측정된 결과, control군에서 normal군에 비하여 SOD 활성이 유의하게($p < 0.05$) 감소하였고, SP6군에서는 control군 및 sham군에 비하여 SOD 활성이 유의하게($p < 0.05$) 증가하였다(Fig. 16).

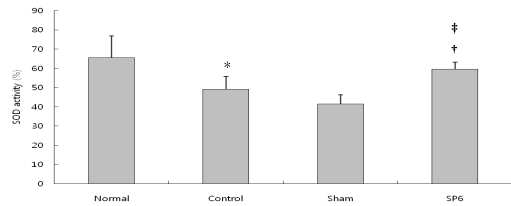


Fig. 16. Effect of EA at SP6 on SOD activity in rat spleen.

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test,
 †: $P < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test,
 ‡: $P < 0.05$ compared to sham group by Kruskal-Wallis test.

(2) Glutathione concentration

실험동물의 비장 조직으로부터 glutathione의 함량을 측정된 결과, control군과 sham군에서 normal군에 비하여 glutathione 함량이 유의하게($p < 0.05$) 감소하였으며, SP6군에서는 control군과 sham군에 비하여 glutathione 함량이 유의하게($p < 0.05$) 증가하였다(Fig. 17).

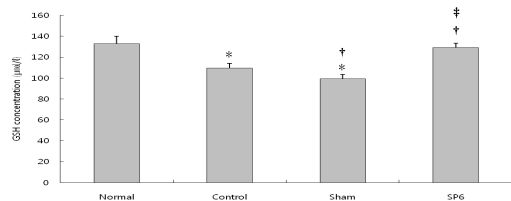


Fig. 17. Effect of EA at SP6 on glutathione level in rat spleen.

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test,
 †: $P < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test,
 ‡: $P < 0.05$ compared to sham group by Kruskal-Wallis test.

(3) Nitric oxide concentration

실험동물의 비장 조직으로부터 NO 함량을 측정된 결과, control군, sham군 및 SP6군에서 normal군에 비하여 NO 함량이 유의하게(p<0.05) 증가하였고, SP6군에서는 control군 및 sham군에 비하여 NO 함량이 유의하게(p<0.05) 감소하였다(Fig. 18).

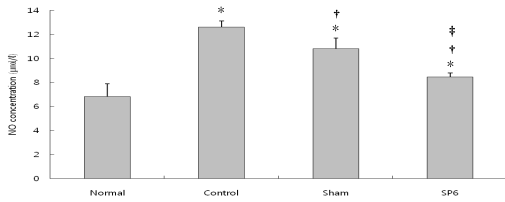


Fig. 18. Effect of EA at SP6 on NO level in rat spleen.

*: P<0.05 compared to normal group by Kruskal-Wallis test.
 †: P<0.05 compared to control group by Kruskal-Wallis test.
 ‡: P<0.05 compared to sham group by Kruskal-Wallis test.

(4) MDA concentration

실험동물의 비장 조직으로부터 MDA 함량을 측정된 결과, control군에서 normal군에 비하여 MDA 함량이 유의하게(p<0.05) 증가하였으며, SP6군에서는 control군에 비하여 MDA 함량이 유의하게(p<0.05) 감소하였다(Fig. 19).

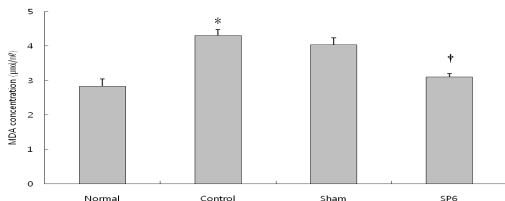


Fig. 19. Effect of EA at SP6 on MDA level in rat spleen.

*: P<0.05 compared to normal group by Kruskal-Wallis test.
 †: P<0.05 compared to control group by Kruskal-Wallis test.

(5) Catalase activity

실험동물의 비장 조직으로부터 catalase activity를 측정된 결과, control군, sham군 및 SP6군에서 normal군에 비하여 catalase 활성이 유의하게(p<0.05) 감소하였으며, SP6군에서는 control군 및 sham군에 비하여 catalase 활성이 유의하게(p<0.05) 증가하였다(Fig. 20).

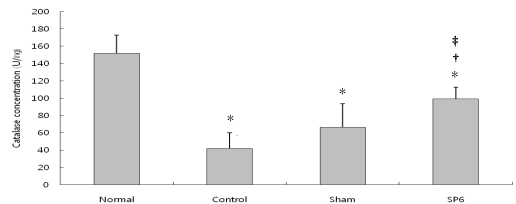


Fig. 20. Effect of EA at SP6 on catalase activity in rat spleen.

*: P<0.05 compared to normal group by Kruskal-Wallis test.
 †: P<0.05 compared to control group by Kruskal-Wallis test.
 ‡: P<0.05 compared to sham group by Kruskal-Wallis test.

4. 비장에서의 cytokine 분석

각 실험동물의 비장조직에서 IL-4, IL-6, IFN- γ 등 cytokine을 측정하였다(Table 5).

Table 5. Effect of EA at SP6 on the levels of various cytokines in rat spleen

Parameter	Normal	Control	Sham	SP6
IL-4	0.47 ±0.03	0.67 ±0.16	0.57 ±0.02	0.51 ±0.02
IL-6	0.43 ±0.02	0.65 ±0.05	0.68 ±0.03	0.49 ±0.08
IFN- γ	0.28 ±0.01	0.22 ±0.02	0.23 ±0.02	0.26 ±0.02

The rats in the normal group were 7 weeks old and those in the control, sham and SP6 groups were 33 weeks old. The rats in SP6 and sham groups were treated with 2 Hz electro-acupuncture at left SP6 and sham point in left gluteal region respectively for 8 weeks (2 times/week). After the animals were sacrificed, the spleen was removed and the levels of various cytokines in spleen cell culture supernatant were analyzed by ELISA. Values represent mean \pm S.D.(n=8).

1) IL-4

실험동물의 비장조직에서 IL-4 level을 측정한 결과, normal군에 비하여 control군 및 sham군에서 IL-4가 유의하게($p < 0.05$) 증가하였다. SP6군에서는 control군 및 sham군에 비하여 IL-4가 유의하게($p < 0.05$) 감소하였다(Fig. 21).

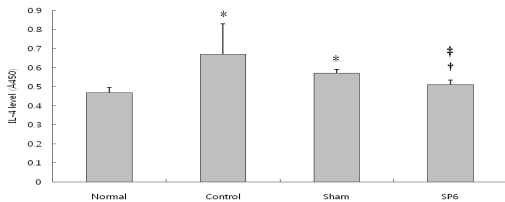


Fig. 21. Effect of EA at SP6 on IL-4 in rat spleen cell culture.

*: $p < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test,
 †: $P < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test,
 ‡: $P < 0.05$ compared to sham group by Kruskal-Wallis test.

2) IL-6

실험동물의 비장조직에서 IL-6 level을 측정한 결과, control군 및 sham군에서 normal군에 비하여 IL-6가 유의하게($p < 0.05$) 증가하였고, SP6군에서는 control군 및 sham군에 비하여 IL-6가 유의하게($p < 0.05$) 감소하였다(Fig. 22).

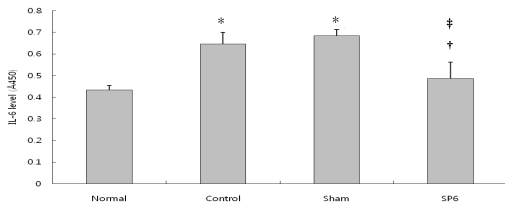


Fig. 22. Effect of EA at SP6 on IL-6 in rat spleen cell culture.

*: $p < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test,
 †: $P < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test,
 ‡: $P < 0.05$ compared to sham group by Kruskal-Wallis test.

3) IFN- γ

실험동물의 비장조직에서 IFN- γ level을 측정한 결과, control군 및 sham군에서 normal군에 비하여 IFN- γ 가 유의하게($p < 0.05$) 감소하였고, SP6군에서는 control군 및 sham군에 비하여 IFN- γ 가 유의하게($p < 0.05$) 증가하였다(Fig. 23).

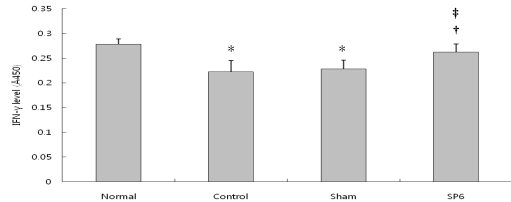


Fig. 23. Effect of EA at SP6 on IFN- γ in rat spleen cell culture.

*: $P < 0.05$ compared to normal group by Kruskal-Wallis test,
 †: $P < 0.05$ compared to control group by Kruskal-Wallis test,
 ‡: $P < 0.05$ compared to sham group by Kruskal-Wallis test.

IV. 고찰

노화란 수정으로부터 죽음에 이르기까지의 생체변화, 혹은 성숙기 이후부터 생기는 신체변화로서, 몸 안에서 점차적으로 이루어지는 기능형태학적 변화의 생물학적 과정이다⁶⁾. 노화의 공통적인 속성으로는 보편성, 비가역성, 진행성을 들 수 있다. 또한 노화에 따른 생체유지 기능의 저하는 필연적으로 면역의 저하를 초래하고, 따라서 노인질환의 이환율을 증가시킨다²⁰⁾. 노화가 질병이나 외부 스트레스와 같은 환경인자에 영향을 받는다고 해서 노화와 노인질환이 반드시 일치한다고 볼 수는 없지만, 노인질환이 노화에 의해서 영향을 받으며, 中風, 암, 당뇨와 고혈압 심장병을 비롯한 성인병과 각종 퇴

행성 질환은 老化현상과 밀접한 관련이 있는 것이 사실이다^{8,9,21)}.

한의학에서는 노화를 生長化收藏하는 자연과 같은 生長壯老死하는 인류 생명의 자연법칙으로 인식하였고, 노화의 원인을 나이가 증가함에 따라 장기간에 걸친, 陰陽, 臟腑, 氣血, 經絡, 情志의 변화로 인한 생명의 쇠퇴현상으로 파악하였다²²⁾. 『素問·上古天真論』에 “女子 …… 六七, 三陽脈衰於上, 面皆焦, 髮始白, 七七, 任脈虛, 太衝脈衰少, 天癸竭, 地道不通, 故形壞而無子也”하며, “男子 …… 六八, 陽氣衰竭於上, 面焦, 髮鬢頰白, 七八, 肝氣衰, 筋不能動, 天癸竭, 精少, 腎藏衰, 形體皆極”²³⁾이라 하여 年老하면 精血이 損하여 形體皆極한다고 하였다. 精血은 先天의 肝腎 외에도 後天의 脾胃로 보충될 수 있는데, 東垣은 『脾胃論』에서 “脾胃不足 爲百病之始”²⁴⁾라 하여 五臟 중 脾胃의 중요성을 강조하였다. 이러한 脾胃로부터 오는 後天失調는 脾胃虛損, 臟腑虛弱, 起居無節, 妄于勞作 등으로 후천적 환경에 따른 장부의 쇠약 또한 精血의 허손을 야기해 노화에 영향을 줄 수 있다²¹⁾. 이러한 관점에서 노화의 치료의 원칙 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^{22,25)}.

三陰交는 종아리의 안쪽면, 안쪽복사(medial malleolus) 꼭대기에서 위로 3寸으로, 정강뼈 안쪽모서리의 뒤쪽에 위치하는 足太陰脾經의 6번째 穴로 陰陽二總穴(主陰), 回陽九鍼穴의 하나이고, 足厥陰肝·足太陰脾·足少陰腎의 交會穴로 補脾土, 助運化, 通氣滯, 疏下焦, 調血室精宮, 祛經絡風濕의 효능

이 있다¹⁸⁾. 三陰交는 足太陰脾經에 속하지만, 肝經, 腎經과 交會하여 肝脾腎의 經氣가 모두 지나는 곳으로, 노화에 가장 직접적인 영향을 끼친다고 볼 수 있는 先天의 肝腎과 後天之精을 받아들이는 脾를 모두 조절할 수 있다는 점에서, 三陰交를 선택하여 실험을 진행하였다.

현대 의학에서의 노화학설은 다양하여 消耗說, 內分泌說, 生氣說, 中毒說, stress說, 突然變異說, 自己免疫說, 化學反應說, DNA說 등 생물학적, 생화학적, 형태학적 측면에서 본 여러 가지 학설이 분분한데, 각각의 학설은 그 학설의 절대성보다 각 학설들을 상호보완적으로 이해하면 도움이 될 듯하다²⁶⁾.

이 중 최근에 가장 주목받고 있는 학설이 Harman에 의해 최초로 제기된 free radical 이론으로, 생체 내에서 생성되는 활성산소종(Reactive Oxygen species, ROS)들이 연속적으로 유해반응을 일으켜 노화과정을 촉진시킬 뿐 아니라 각종 노인질환을 일으킨다는 학설이다⁷⁾.

Free radical은 짝지워지지 않은 전자를 가진 원자나 분자를 말하는 것으로, 정상적인 세포대사과정에서 생성되는데 방사선, 약물, 오존 등 환경적 요인에 의하여 그 생성이 증가될 수 있으며, 생화학적으로 주요한 것은 산소(O₂, H₂O, OH⁻), 질소(NO), 탄소(CCl₃⁻) 중심의 radical이다^{27,28)}. 이들 free radical은 반응성이 매우 강해서 여러 세포 내 거대 분자를 변성시킬 수 있는데, 특히 불포화 지방산을 포함한 지질을 쉽게 산화시켜 결국 세포막 구조의 기능을 상실케 한

다²⁹⁾.

Free radical 중 산소를 포함하는 것을 활성산소라 칭하며, 생체에 흡입되어진 산소의 일부가 과산화수소 및 활성산소로 변환되면 지질의 과산화반응이 진행되고, 지질의 산화가 유도되면 세포막의 파괴, 세포의 노화, 세포의 괴사 등으로 나타나고 나아가서 세포의 노쇠를 초래한다고 알려져 있으며, 결국 생체구성 성분의 산화적 손상들이 축적되어 생체가 노화와 죽음에 이르게 된다는 것이다^{7,30)}.

전침요법은 한의학의 침 요법과 현대과학기술의 결합에 의하여 발전된 침구치료방법 중 하나로, 經穴에 자침하여 感應이 있는 후침에 전류를 통하는 것으로 기계적 자극과 전기적 자극을 결합시킨 치료법이다. 전침은 장시간의 지속적인 運鍼을 대체 하나로,으며, 비교적 객관적으로 자극량을 중 하나로,고, 인체조직의 어느 一點에 자극을 집중시킬 수 있는 장점이 있어 최근 임상에서 전침요법을 다용하게 사용하고 있다³¹⁻³³⁾.

본 실험은 노화과정에서의 항산화능 및 면역능에 대한 三陰交 전침의 영향을 알아보기 위하여 7주령과 33주령의 흰쥐를 normal군, control군, sham군, SP6군으로 분류하고, 8주간 三陰交에 2 Hz의 전침자극을 가한 후, 각 개체군의 hematology와 blood chemistry를 분석하고, 肝과 脾臟조직을 분획하여 glutathione, NO, MDA의 함량 및 SOD, catalase의 활성도를 측정하고, 脾臟세포에서 cytokine을 측정하였다.

먼저 각 실험군의 혈액으로부터 백혈구,

적혈구, 혈소판 수를 측정한 결과, 적혈구 수는 SP6군에서 control군과 sham군에 비하여 약간 감소하였으나 유의성은 없었고 (Table 1, Fig. 1), 백혈구 수는 SP6군에서 control군과 sham군에 비하여 증가하였으나 유의성이 없었다(Table 1, Fig. 2). 혈소판 수는 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 감소하였다(Table 1, Fig. 3).

노화가 진행되면서 造血機能의 위축과 形成不全으로 인한 造血機能의 저하로 적혈구와 백혈구 수는 감소하며, 혈소판 수는 증가하는 경향을 보이는데¹⁷⁾, 본 실험에서 혈소판 수는 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 증가하였으나, 적혈구와 백혈구수에서는 유의성 있는 결과를 얻지 못하였다.

각 실험군의 혈청으로부터 albumin, total bilirubin, LDL-Cholesterol, glucose, ALP, AST, ALT 등의 혈청 성분을 분석하였다.

Albumin은 주로 간에서 합성되는 단백질로서 전생체조직, 세포의 영양단백 보급원으로 중요하지만, 기타 금속이온, bilirubin, 지방산, vitamin, hormone, 약물 등 각종 성분을 결합, 운반하여 필요한 것은 세포로 운반하고, 불필요한 것은 제거하는 역할을 담당하고 있다³⁴⁾.

Bilirubin은 hemoglobin에서 유래하는 porphyrin IX가 간 또는 비장의 망내계세포에서 효소에 의한 산화, 환원 반응으로 생기는 화합물로서 물에 불용성이므로 순환 혈액에서는 혈청 albumin과 가역적으로 결합한다. Bilirubin은 혈청 내 소량 존재하지만,

albumin보다 효율적으로 항산화 작용을 하며³⁵⁾, 다른 항산화제보다 높은 과산화 제거 작용을 보여주는 실험도 보고되고 있다³⁶⁾.

LDL cholesterol은 주로 간에서 말초로 cholesterol을 운반하는 지단백으로서 혈관 내피하에서 산화변성을 받아 산화 LDL로 되어 세포내 축적되어 동맥경화를 진전시키는 것으로 이해되는 물질이다³⁴⁾.

탄수화물은 인간의 중요한 에너지원이며, 가수분해시 aldehyde나 ketone 같은 산물을 생성할 수 있는 물질로서 이 중 glucose로 알려진 육탄당은 생체 내에서 가장 흔한 단당류로 알려져 있다. 전분은 소장 내에 흡수되기 전에 단당류로 전환되며, 전환된 단당류는 간문맥 순환을 통해 간으로 수송된다. 과다한 glucose는 간, 근육 등에 glycogen으로 되어 저장되고, 저장된 glycogen은 필요시에 다시 glucose로 변환된다³⁷⁾.

ALP는 대개 조골세포에서 유래하며, 뼈의 파괴와 동시에 재구성이 이루어질 때 상승하며, 간에 있어서 폐쇄성 황달일 때 상승하고, 성장기의 시기에 높게 나타난다³⁸⁾.

AST와 ALT는 혈중 간기능의 지표가 되는 것으로 각각 GOT(glutamate oxaloacetate transaminase)와 GPT(glutamate pyruvate transaminase)로 불리기도 한다. 이들은 심근, 간, 근육, 혈구에 장애가 생기면 혈중으로 효소가 유출하여 혈중 효소활성이 증가하는데, ALT는 주로 간에서 나오는 효소이고, AST는 심장, 골격근, 신장, 뇌에도 존재한다³⁴⁻³⁷⁾.

본 실험에서 albumin level은 SP6군에서 sham군 및 control군에 비하여 약간 감소하

였으나 유의성은 없었고(Table 2, Fig. 4.), total bilirubin level은 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 증가하였으나 유의성은 없었다(Table 2, Fig. 5.). LDL-cholesterol level은 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었고(Table 2, Fig. 6.), glucose의 양은 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 약간 증가하였으나 control군에 대해서만 유의성이 있었으며(Table 2, Fig. 7.), ALP의 양은 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 감소하였으나 유의성이 없었다(Table 2, Fig. 8.). AST의 양은 SP6군에서는 control군 및 sham군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었고(Table 2, Fig. 9.), ALT의 양은 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다(Table 2, Fig. 10.).

이상에서의 blood chemistry에 대한 실험에서는 SP6군에서 control군 및 sham군에 대한 유의성 있는 결과를 얻지 못하였다.

노화과정에서의 장기 내 항산화능에 대한 三陰交 전침의 효과를 알아보기 위해 肝과 脾臟조직으로부터 SOD activity, glutathione concentraion, NO concentration, MDA concentration, catalase activity를 측정하였다.

SOD는 활성산소(O₂⁻)를 기질로 하여 과산화수소와 산소를 만드는 효소로서 반응성이 큰 활성산소는 일단 SOD에 의해 과산화수소가 된 후 catalase에 의해 물로 무독화된다³⁸⁾. 산소 대사과정에서 가장 먼저 생성

되는 활성산소를 제거시킨다는 점에서 인체 내에서 중요한 항산화 효소 중 하나이다³⁹⁾.

Glutathione은 모든 조직에 분포하며, GSH peroxidase의 작용을 받아 과산화수소를 무독한 물로 변환시키고, 간에서는 GSH-S-transferease의 작용을 받아 외부로부터 온 화학물질과 결합하여 화학물질을 무독화시키는 등, 모든 조직에 분포하여 세포의 유지 및 생존에 필수적인 방어기구를 수행하는데, 특히 방사선 장애에 대한 방어, 세포막의 유지, 효소의 SH기 유지, 이물질의 해독 등 생명유지에 중요한 작용을 하고 있는데, 노화축진마우스에 있어서 뇌와 간의 GSH는 加齡에 따라 감소한다고 한다^{38,40)}.

NO는 염증의 화학 매개체 중 하나이며, 동시에 free radical로 작용하고, 매우 불안정하며, 반응성이 강한 물질로서 병리적 혈관확장, 세포독성, 조직손상 등 생체에 유해한 작용을 나타내고, 염증상태에서 혈관 투과성, 부종 등 염증반응을 촉진시키는 것으로 알려져 있다⁴¹⁻⁴³⁾.

MDA는 多價不飽和脂肪酸이 직접적 또는 간접적으로 과산화 과정을 통해 분해되어 결과적으로 형성되는 물질로, 단백질의 제1차 아미노 그룹과 격렬하게 반응할 수 있기 때문에 세포막에 결합된 효소의 활성도를 떨어뜨리거나 지질층의 견고성을 증가시킨다³⁴⁾.

Catalase는 세포내에서 과산화수소를 제거하는 효소로 free radical에 의한 세포 독성시 초기에 과산화수소를 분해함으로써 과산화수소 증가에 따른 조직 손상을 방지하는 효과가 있으며, 여러 장기에서 다양하게

존재하지만, 신장과 간장에서 활성도가 특히 높다^{44,45)}.

肝臟 조직에서의 실험결과 SOD는 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 증가하였으나 유의성이 없었고(Table 3, Fig. 11), GSH는 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 증가하였으나 sham군에 대해서만 유의성이 있었다(Table 3, Fig. 12). NO는 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 감소하였고(Table 3, Fig. 13), MDA는 SP6군에서 control군과 sham군에 비하여 감소하였으나, 유의성이 없었고(Table 3, Fig. 14), catalase는 SP6군에서 control군 및 sham군에서 유의하게 증가하였다(Table 3, Fig. 15).

脾臟 조직에서의 실험결과 SOD는 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 증가하였고(Table 4, Fig. 16), GSH는 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 증가하였으며(Table 4, Fig. 17), NO는 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 감소하였고(Table 4, Fig. 18), MDA는 control군과 sham군에 비하여 감소하였으나 control군에 대해서만 유의성을 나타내었고(Tabel 4, Fig. 19), catalase는 SP6군에서 control군 및 sham군에서 유의하게 증가하였다(Table 4, Fig. 20).

三陰交 電針의 노화과정에서의 장기 내 항산화능에 대한 실험 결과, SP6군에서 肝臟에서 NO 함량의 감소와 catalase의 활성도 증가에 유의성 있는 결과가 나왔고, 脾臟에서 SOD와 catalase의 활성도 증가와 glutathione의 함량 증가, NO의 함량 감소

에 유의성 있는 결과가 나와 노화과정에서의 산화물질 감소와 항산화작용 증가의 효과가 있을 것으로 사료된다.

노화과정에서의 면역력에 대한 三陰交 전침의 영향을 알아보기 위해 비장조직에서 cytokine인 IL-4, IL-6, IFN- γ 를 측정하였다.

IL-4는 주로 T림프구에서 생산되며, B세포 증식에 관여한다. B림프구에서 IgG, IgE 생산을 유도하고, T림프구 증식을 촉진하는 등의 여러 작용을 한다³⁴⁾.

IL-6은 염증시에 과잉으로 생산되어 그 병태 형성에 관계하는 것으로 추측되고 있고, T세포를 자극하는데 있어서 IL-1과 TNF와 상승작용을 하며, 혈소판 생성에 대한 작용이 주목되고 있다³⁴⁾.

IFN- γ 는 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 가져 IL-4, IL-6와 IFN- γ 는 서로 길항적으로 면역을 조절하는 작용이 있다^{46,47)}.

본 실험에서 IL-4는 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 감소하였고 (Table 5, Fig. 21), IL-6는 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 감소하였다(Table 5, Fig. 22). IFN- γ 는 SP6군에서 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 증가하였다(Table 5, Fig. 23).

이상의 실험 결과를 살펴보면 SP6군에서 IL-4와 IL-6가 유의하게 감소하고, IFN- γ

가 증가한 것으로 나타나 三陰交 전침이 면역조절에 효과가 있을 것으로 사료된다.

이상의 실험 결과로 보아 三陰交 전침은 노화과정에서 발생하는 산화작용을 억제하고 항산화작용을 증가시키며 면역력을 조절하는데 효과가 있는 것으로 사료된다.

V. 결론

三陰交 전침이 노화과정에서의 항산화능과 면역능에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 노화과정 흰쥐의 三陰交 상응부위에 전침자극을 가한 후 혈액분석과 肝臟 및 脾臟組織을 분획하여 glutathione, NO, MDA의 함량 및 SOD, catalase의 활성도를 측정하고, 脾臟조직에서 cytokine을 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 三陰交 전침군에서 혈소판이 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 감소하였다.
2. 三陰交 전침군에서 肝臟에서의 NO의 함량 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 감소하였고, catalase의 활성도는 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 증가하였다.
3. 三陰交 전침군에서 脾臟에서의 SOD와 catalase의 활성도 및 glutathione의 함량이 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 증가하였고, NO의 함량은 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 감소하였다.

4. 三陰交 전침군에서 脾臟 내 IL-4와 IL-6는 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 감소하였고, IFN- γ 는 control군 및 sham군에 비하여 유의하게 증가하였다.

참고문헌

1. 통계청. 통계소식 제161호. 2005 ; 4, 5.
2. 김미옥. 노인의 소외감과 신체적 노화에 관한 연구. 대한간호학회지. 1987 ; 17(1) : 64-78.
3. 김용석, 서정철, 이흥민. 노화의 연구동향에 관한 고찰. 대한침구학회지. 2001 ; 18(1) : 146-56.
4. 홍현방, 최혜경. 성공적인 노화 정의를 위한 문헌연구. 한국가정관리학회지. 2003 ; 21(2) : 145-54.
5. 김숙희, 김화영. 노화. 서울 : 민음사. 1995 : 13-5, 77-9, 83-8.
6. 최진호. 老化의 메카니즘과 研究方向. 한국생화학회. 1985 ; 5(3) : 39-53.
7. 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. New york : Alan R. Liss. inc. 1986 : 3-49, 111-31.
8. 남홍길, 우혜련. 老化의 유전적 조절 및 老化 조절 유전자연구에 대해. 화학세계. 1998 ; 38(8) : 32-7.
9. 이호준, 오승은. 환경 스트레스, 활성산소와 스트레스-에틸렌 간의 상호 관계. 한

- 국생태학회지. 1994 ; 17(1) : 91-100.
10. 김로사, 조정훈, 장준복, 이경섭. 紫河車가 老化생쥐의 生殖能力에 미치는 영향. 大韓韓方婦人科學會誌. 2002 ; 15(2) : 1229-92.
11. 김영희, 안규석, 송동근, 위명복. 흰쥐에서 노화관련 생리적 변화들에 미치는 인삼 및 황기의 효과. 大韓韓醫學會誌. 1989 ; 10(2) : 26-46.
12. 김정숙, 이제현, 마진열, 전원경. 노화 방지를 위한 한약재의 효능 연구(I). 1995 ; 1(1) : 401-18.
13. 安相源, 李哲浣. 熟地黃과 六味地黃湯이 老化過程 흰쥐에서의 抗酸化 機轉에 미치는 影響. 대전대학교 논문집. 1999 ; 8(1) : 593-623.
14. 최예원, 안택원. 十二味寬中湯이 Wistar rat의 노화에 따른 변화에 미치는 實驗的 考察. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 2004 ; 13(2) : 317-26.
15. 주립산, 안택원. 清心蓮子湯이 Wistar rat의 노화에 따른 체중, 혈액학적 및 혈청 생화학적 변화에 관한 實驗的 研究. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 2004 ; 13(2) : 337-45.
16. 이수영, 안택원. 鹿茸大補湯의 노화 억제 효과에 대한 실험적 연구. 대전대학교 한의학연구소 논문집. 2007 ; 16(2) : 327-48.
17. 이준성. 足三里 電針이 흰쥐의 老化에 미치는 影響. 대한침구학회지. 2007 ; 24(3) : 145-61.
18. 전국한외과대학 · 한의학전문대학원 경락

- 경혈학 교재편찬위원회. 대학경락경혈학 각론(상). 서울 : 의방서원. 2009 : 346.
19. Bansal VS, Hattori H, Orihel D, Kanfer JN. Neurochem Res.: Distribution of selected phospholipid modifying enzymes in rat brain microsomal subfracions prepared by density grradient zonal rotor centrifugation. 1985 ; 10(4) : 439-51.
 20. Aebi H. In methods of enzymatic analysis(Bergmeyer. H. U. eds.). New York : Academic Press. 1974 : 674-8.
 21. 杜鎬京. 東醫腎系學. 서울 : 東洋醫學研究院. 1993 : 1093-100, 1325-83.
 22. 김재식. 老化的 기전과 예방. 한국면역학회지. 2001 ; 1(2) : 104-8.
 23. 洪元植. 精校黃帝內經. 서울 : 東洋醫學研究院. 1981 : 11, 19-20.
 24. 李東垣. 東垣十種醫書. 서울 : 대성출판사. 1991 : 72.
 25. 白上龍. 老化에 대한 研究. 大韓韓醫原典學會誌. 1999 ; 12(2) : 175-83.
 26. 한복기. 활성산소와 노화현상. 화학세계. 1998 ; 38(8) : 48-51.
 27. Niki E, Yamamoto Y, Komuro E, Sato K. Membrane damage due to lipid oxidation. Am J Clin Nutr. 1991 ; 53 : 201.
 28. 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.
 29. Kellogg EW 3rd, Fridovich I. Liposome oxidation and erythrocyte lysis by enzymically generated superoxide and hydrogen peroxide. J Biol Chem. 1977 ; Oct ; 252(19) : 6721-8.
 30. Cohen G. The generation of hydroxyl radicals in biological system. Photobiol. 1978 ; 28 : 669-75.
 31. 徐滿祥. 付磨是電針療法. 中國 : 利學月刊. 1973 ; 4 : 21.
 32. 전국한의과대학 침구경혈학교실 편저. 침구학(하). 서울 : 集文堂, 1994 : 1447-50.
 33. 이재동, 최도영, 박동석, 이윤호, 안병철, 최용대 외. 고빈도전침자극의 자극시간에 따른 중추신경계 신경세포의 활성변화에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1998 ; 15(2) : 17-28.
 34. 이귀녕, 이종순. 임상병리과일 제3판. 서울 : 의학문화사. 2003 : 155, 218, 328, 334, 399, 498, 719.
 35. Soriani M, Oietraforte D, Minetti M. Antioxidant potential of anaerobic human plasma : Role of serum albumin and thiols as scavengers of carbon radicals. Arch Biochem Biophys. 1994 ; 312 : 180-8.
 36. Stocker R, Ames BN. Potential role of conjugated bilirubin and copper in the metabolism of lipid peroxides in bile. Proc Nat Acad Sci USA. 1987 ; 84 :

- 8130-4.
37. 이삼열, 정윤섭, 권오현, 송경순. 임상병리검사법. 서울 : 연세대학교출판부. 2000 : 224, 262.
38. 徐延旭. 노화촉진 마우스에서 加齡에 따른 항산화능 및 생리적, 혈액학적 변화. 충남대학교대학원. 1995.
39. 金潤子. 平補湯이 노화에 미치는 영향. 동국대학교대학원. 1996.
40. Sakamoto Y, Higashi T. Glutathione. Japan scientific societies. 1989 : 5.
41. 김영화. 肉蓯蓉藥針의 抗酸化作用에 關한 實驗的 研究. 大田大學校 大學院. 2001.
42. 이종무, 이병렬. 택사약침의 항산화효과에 관한 실험적 연구. 大韓鍼灸學會誌. 2003 ; 20(1) : 159-76.
43. 류재하, 장세란, 이소영, 이화진, 한용남. 활성화한 RAW 264.7 세포주에서 인삼 Polyacetylene류의 Nitric Oxide 생성저해. J Ginseng Res. 1998 ; 22(3) : 181-7.
44. 鄭智天. 左歸飲과 右歸飲에 의한 활성산소류의 消去作用과 항산화 효소계의 활성증가 효과에 대한 연구. 대한한의학회지. 1996 ; 17(1) : 465-77.
45. Al-Omar M. Free Radicals in Biology and Medicine. Saudi pharmaceutical journal. 2003 ; 11(4) : 207.
46. 中島 泉. 신면역학입문. 지구문화사. 1997 : 63, 118-28, 175-87, 258-9.
47. 서울대학교 의과대학 편. 면역학. 서울 : 서울대학교 출판부. 1997 : 100-31, 179-80, 253-69.