

蜂毒鍼刺戟이 생쥐의 免疫機能에 미치는 影響

姜承範·高炯均·金昌煥

ABSTRACT

Effect of Api-Toxin Therapy on Depression of Immune Response in Mice

Kang Seung-Bum, Koh Hyuhg-Kyun and Kim Chang-Hwan

In order to investigate the effects of api-toxin therapy on depression of immune response, mice were exposed to cold stress (-20°C) in 30 minutes twice a day and api-toxin(Bee Venom from Korea and U.S.A.) therapy was treated to the Kihae (CV_6) locus of human body every two days with 4 sessions of treatment for 8 days. The mice were sensitized i.v. with 5×10^8 sheep red blood cells (SRBC) on the 4th day and challenged i.d. with 2×10^9 SRBC 4 days later.

Immune Response for delayed type hypersensitivity (DTH), lymphocyte transformation(LTT), hemolysin titer(HL), plaque forming cells (PFC) were measured.

* 慶熙大學校 韓醫科大學 鍼灸學 教室

I. 緒 論

人間은 外部環境과 매우 密接한 關係를 가지고 있다.^{4,5)} 《內經 素問, 寶命全形論》에 “人以天地之氣生 四時之法成”¹⁸⁾이라 하였고 《六節臟象論》에는 “天食人以五氣 地食人以五味”¹⁸⁾라 하였으며 《靈樞 歲露篇》에 “人如天地相應也”¹⁹⁾라 하여 外部自然環境과 우리 人間과의 關係를 說明하고 있다. 自然環境의 正常的인 氣候現象을 六氣라 하며 氣候의 異常으로 人體正常生理의 協調平衡을 破壞하여 發病因자로 作用하게 될 때 六氣는 “六淫”이 된다. 이 六淫中 寒은 陰邪이며 그 性質은 肅殺 潛藏 收引하여 凝滯시켜 쉽게 陽氣를 傷하게 한다. 寒邪는 病이 되면 表裏를 莫論하고 陽氣를 쉽게 傷하거나, 表陽(衛陽)을 抑鬱시켜 榮衛가 不調케 하거나, 或은 直接 臟腑의 陽氣를 損傷시켜서 機能障礙를 일으켜 陰寒邪盛, 或 陽虛不足의 證을 誘發시킨다.^{4,5)} 蜂毒療法(Api-toxin therapy)이란 꿀벌의 毒囊에 들어있는 蜂毒을 抽出, 加工하여 疾病과 有關한 部位 및 穴位에 注入함으로써 刺針效果和 蜂毒의 生化學的 特異物質이 人體에 미치는 藥理作用을 동시에 利用한 新針療法²¹⁾의 一種이다. 따라서 本 實驗은 寒邪가 人體內의 免疫機能을 低下시킨다는 報告¹⁶⁾에 根據하여 蜂毒鍼刺戟을 주고, 그 免疫機能 恢復을 보고자 調氣機 補腎虛의 作用을 지닌 氣海(CV6)^{10,14,15)}를 擇하여 생쥐에게 韓國產 및 美國產 蜂毒鍼刺戟을 一定한 方法으로 注入한 後 遲延型 過敏反應, 淋巴球

增殖反應, 赤血球 溶血素價, 抗體產生細胞 形成을 測定하였던 바 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 動物 및 材料

1) 動物

體重 20~25g의 ICR系 雄性생쥐로 飼料(Cafmeal : 제일飼料 Co.)와 물을 充分히 供給하면서 2週間 實驗室 環境에 適應시킨 후 使用하였다.

2) 材料

① 注射器 : 1.0ml의 1회用 注射器(注射針 26gage, 綠十字醫療工業社, 韓國)를 使用하였다.

② 蜂 毒 : 韓國產 및 美國產 蜂毒을 使用하였다.

2. 方法

1) 寒冷刺戟으로 免疫機能 低下 誘發

생쥐에 -20℃ [ultra deep freezer(Revco No.ult.-1285, U.S.A.)] 에서 1日 2回(午前 9時 午後 3時) 30分씩 8日동안 寒冷刺戟을 주었다.

2) 取穴

人體의 氣海(CV₆)에 相應하는 部位를 骨度法에 의하여 取穴하였다.

3) 蜂毒鍼刺戟 方法

實驗動物을 正常群, 對照群, 韓國産蜂毒鍼刺戟群, 美國産蜂毒鍼刺戟群으로 區分하여 한 群에 8마리씩 配定하고 蜂毒鍼刺戟은 寒冷刺戟과 竝行하여 一定時刻에 2日 1回씩 8日間 總 4回 施行하였다.

正常群 : 아무 刺戟을 하지 않은 생쥐를 正常群으로 하였다.

對照群 : 寒冷刺戟을 주면서 2日 1回씩 總 4回 生理食鹽水 0.1ml를 氣海(CV₆)에 注入한 생쥐를 對照群으로 하였다.

韓國産蜂毒鍼刺戟群 : 對照群과 同一한 方法으로 寒冷刺戟을 주면서 2日 1回씩 總 4回 韓國産蜂毒 0.1ml(0.2mg/1ml/10g)를 氣海(CV₆)에 注入하였다.

美國産蜂毒鍼刺戟群 : 對照群과 同一한 方法으로 寒冷刺戟을 주면서 2日 1回씩 總 4回 美國産蜂毒 0.1ml(0.2mg/1ml/10g)를 氣海(CV₆)에 注入하였다.

4) 抗原^{29,31)}

抗原으로 使用된 緬羊赤血球(Sheep Red Blood Cell : S.R.B.C.)는 緬羊의 頸動脈으로부터 heparin 處理된 注射器로 採血한 후 同量 Alserver氏液(Dextrose 20.5g/l, Sodium citrate 8.0g/l, Citric acid 0.55g/l, Sodium chloride 4.2g/

l)을 加하여 4℃에서 保存하며 保存한지 1週日 以內的 것만 使用하였다.

5) 免疫^{29,31)}

寒冷刺戟 4日째 되는 날 생쥐의 尾靜脈에 緬羊赤血球 5×10⁸ cells/ml의 濃度로 調整된 緬羊赤血球 浮遊液 0.2ml로 1次 免疫시킨 후 寒冷刺戟 8日째 되는 날 2×10⁹cells/ml의 濃度로 調整된 緬羊赤血球 浮遊液 0.05ml를 右側 後肢 足蹠皮內에 注射하여 2次 免疫시켰다.

6) 採血 및 血清分離

足蹠腫脹反應檢査가 끝난 생쥐를 解剖板에 固定하고 1回用 注射器로 心臟에서 約 1ml 採血한 다음 5ml用 plastic tube (Falcon, No.2058, Oxford, CA., U.S.A.)에 조심스럽게 옮긴 후 1時間 동안 室溫에서 放置하고 작은 유리봉으로 凝固된 血液을 數回 저은 후 遠心分離器로 2000rpm에서 30分間 遠心分離시켜 上層의 血清을 다른 tube에 취하였다. 이 血清을 56℃에서 30分間 非動化시킨 후 實驗에 使用하였다.

7) 遲延型 過敏反應 測定^{32,33,41,44)}

遲延型 過敏反應(delayed-type hypersensitivity : DTH)의 測定은 Mitsuka 等の 方法에 따라 2次 免疫시키고 24時間이 經過한 다음 digimatic caliper (code No.500-110, Mitutoyo, MFG, Co., Tokyo, Japan)를 使用하여 0.01mm 單位까지 測定하여 左右側 後肢足蹠 두께의 差異를 計算하였다.

8) 淋巴球 增殖反應 測定

(1) 脾臟細胞 浮遊液 準備³⁷⁾

無菌狀態로 脾臟을 摘出하여 15ml 遠心tube (Falcon 2099, C.A., U.S.A.)에 옮기고 Hank's balanced salt solution(HBSS : GIBCO. No.310-4020)을 3ml씩 加한 다음 滅菌된 유리봉을 넣어 脾臟을 가볍게 찢으면서 脾臟細胞를 遊離시킨 후 組織破片을 가라 앉히고 上層의 均一한 single cell을 取하며 除去되지 않은 덩어리들은 stainless steel mesh (opening : 104 μ m ; Spectrum medical Ind, C.A., U.S.A.)에 通過시켜 除去하고 이를 HBSS로 2回 遠心洗滌한 후 完全培養液을 2.5 및 1.25 $\times 10^6$ cells/ml 濃度로 調整하여 浮遊시켰다.

(2) 淋巴球 增殖反應

(Lymphocyte transformation) 測定³⁷⁾

淋巴球 增殖反應은 Maluish 등의 方法을 多少 修正하여 測定하였다.

(1)의 方法으로 脾臟細胞를 얻은 다음 Tris-NH₄Cl 溶液을 使用하여 混在된 赤血球를 溶血 除去하고 HBSS로 2回 洗滌하여 5 $\times 10^{-5}$ M의 2-mercaptoethanol 및 10 μ g/ml의 concanavalin-A (Con-A: Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Sweden)를 添加한 完全培養液을 2.5 $\times 10^6$ cells/ml 濃度로 浮遊시켰다. 이 細胞浮遊液을 U字型 96 well microplate에 well當 200 μ l씩 分柱하고 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 培養器 內에서 48時間 培養하였다. 여기에 3H-thymidine(New England Nuclear)을 1 μ Ci/well씩 加하고 다시 18時間 培養 후 細胞 收

去器(cell harvester, Adaps, Mass., U.S.A.)를 利用하여 glass fiber filter(Gelman 61638, Mich., U.S.A.)에 細胞를 收去하였다. 이 filter disc를 60 $^{\circ}$ C에서 1時間 乾燥시킨 후 scintillation vial에 옮겨 넣고 toluence cocktail溶液(Popop, 0.1g/l:PPO, 5g/l)을 5ml 加하여 β -scintillation counter (Beckman 8000, C.A., U.S.A.)를 利用하여 放射活性을 測定하였다. 그 平均値는 3倍數로 實驗하여 counts per minute (cpm)로 나타내었다.

9) 赤血球 溶血素價 測定^{34,42)}

緬羊赤血球에 對한 溶血素價(hemolysin titer)를 測定하기 爲하여 56 $^{\circ}$ C에서 30分間 非動化시킨 各各의 생쥐 血清을 microtitration plate의 各 well에 PBS로 2倍 系列稀釋한 다음 그 血清 25 μ l에 0.5% 緬羊赤血球 浮遊液을 50 μ l씩 加한 다음 各 well에 5倍 稀釋한 家兔의 血清을 25 μ l씩 加하여 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 培養器內에 1時間 放置한 後 溶血 與否를 觀察하였으며, 緬羊赤血球가 完全히 溶血을 일으키는 最高稀釋倍數를 溶血素價로 判定하였다.

10) 抗體產生細胞 測定²⁶⁾

抗體產生細胞(plaque forming cells; PFC)의 測定을 위하여 免疫시킨 4日 후 Bacon 등의 方法에 準하여 測定하였으며 base layer agar 溶液을 만들기 爲해서 蒸溜水에 2.8% 濃度가 되게 Bacto-agar(Difco, Detroit, Mich., U.S.A.)를 加하여 蒸氣加壓滅菌한 後 45 $^{\circ}$ C로 冷却시킨 다음

미리 45°C로 加溫시킨 同量의 2×RPMI 1640 組織培養液을 加하였다. 이 agar 溶液을 60×15mm plastic petri dish (Falcon No. 3002, Oxnard, CA., U.S.A)에 2.75ml씩 加하여 室溫에서 均게 한 다음 30分間 放置하였다.

脾臟細胞의 agar 溶液을 만들기 爲해서 上記 方法으로 1.6%의 agar 溶液 0.35ml와 0.01% DEAE Cellulose(Sigma, St. Louis, Mo., U.S.A.) 溶液 0.05ml를 混合하고 여기에 2×RPMI 1640 組織培養液을 0.4ml 加하여 0.8% agar 溶液을 만들고 이 0.8% agar 溶液 0.8ml와 1×10^7 cells/ml로 稀釋한 脾臟細胞 浮遊液 0.1ml와 20% 緬羊赤血球 浮遊液 0.1ml를 12×75mm plastic tube (Falcon No. 2058, Oxnard, C.A., U.S.A.)안에서 잘 섞은 후 plastic petri dish의 base layer agar 위에 붓고, 室溫에서 agar 溶液이 完全히 凝固되면 37°C 5% CO₂ 培養器內에서 1 時間 동안 放置한 後 補體溶液으로 PBS에 1:5로 稀釋하여 만든 20% guinea pig 血清을 1ml 加하여 다시 30分間 培養器內에 放置한 後 補體溶液을 pipette로 除去하고 檢鏡 觀察하여 plaque의 數를 算定하였다.

11) 統計處理 方法⁶⁾

各 群의 統計處理는 分散分析法에 依한 分散比(F-value)를 通하여 各群 사이의 平均值 差異에 對한 有意性 檢定(P값 決定) 후 $\alpha=0.05$ 水準에서 Duncan 檢定法에 依하여 個別 比較를 하였다.

III. 成 績

1. 遲延型 過敏反應에 對한 效果

遲延型 過敏反應을 比較하였던 바 正常群은 0.28 ± 0.09 mm, 對照群은 0.16 ± 0.09 mm이었으며 韓國產蜂毒鍼刺戟群 및 美國產蜂毒鍼刺戟群에서는 0.35 ± 0.15 , 0.32 ± 0.13 mm로 對照群에 比하여 모두 增加하였으며, 全體 實驗群 間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 爲하여 分散分析을 한 結果, F-value는 $4.17(P < 0.05)$ 로 有意성이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 依한 個別 比較에 있어서는 對照群에 比하여 韓國產 및 美國產 蜂毒鍼刺戟群에서 有意性 있는 差異를 보였고, 蜂毒鍼刺戟群 間에는 有意성이 없었다.(Table I)

2. 淋巴球 增殖反應에 對한 效果

생쥐의 脾臟細胞를 Con-A로 刺戟 培養한 後 그 增殖을 比較하기 爲하여 3H-thymidine의 吸收程度를 測定하여 본 바 正常群은 241 ± 57.9 , 對照群은 152 ± 55.8 cpm이었으며, 韓國產蜂毒鍼刺戟群 및 美國產蜂毒鍼刺戟群에서는 260 ± 58.8 , 228 ± 58.9 cpm으로 對照群에 比하여 모두 增加하였으며, 全體 實驗群 間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 爲하여 分散分析을 한 結果, F-value는 $5.38(P < 0.05)$ 로 有意성이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 依한 個別 比較에 있어서는

對照群에 比하여 韓國産 및 美國産 蜂毒鍼刺戟群에서 有意性 있는 差異를 보였고, 蜂毒鍼刺戟群 間에는 有意성이 없었다.(Table II)

Table I. Effects of Api-Toxin Therapy on Delayed Type Hypersensitivity (DTH) in Mice Exposed to Cold Stress.

Group	No. of animals	M ± S.D (mm)	Duncan grouping
Normal	8	0.28 ± 0.09	a ¹⁾
Control	8	0.16 ± 0.09	b
S 1	8	0.35 ± 0.15	a
S 2	8	0.32 ± 0.13	a
F-value	4.17 *		

1) Means with the same letter are not significantly different

at d=0.05 level by Duncan test.

M ± S.D. : Mean standard deviation of 8 mice.

Control : The group treated with 0.1ml saline injection to Kihae(CV6) locus every two days with 4 sessions of treatment during exposed to cold stress for 8 days.

S 1 : The group treated with api-toxin(Bee Venom from Korea) therapy to Kihae(CV6) locus every two days with 4 sessions of treatment during exposed to cold stress for 8 days.

S 2 : The group treated with api-toxin(Bee Venom from U.S.A) therapy to Kihae (CV6) locus every two days with 4 sessions of treatment during exposed to cold stress for 8 days.

Statistically significant value compared with the control data of each group.(P<0.05)

Table II. Effects of Api-Toxin Therapy on L.T.T. in Mice Exposed to Cold Stress.

Group	No. of animals	M ± S.D (mm)	Duncan grouping
Normal	8	241 ± 57.9	a ¹⁾
Control	8	152 ± 55.8	b
S 1	8	260 ± 58.8	a
S 2	8	228 ± 58.7	a
F-value	5.38 *		

1) Means with the same letter are not significantly different

at d=0.05 level by Duncan test.

M ± S.D. : Mean standard deviation of 8 mice.

Control : The group treated with 0.1ml saline injection to Kihae(CV6) locus every two days with 4 sessions of treatment during exposed to cold stress for 8 days.

S 1 : The group treated with api-toxin(Bee Venom from Korea) therapy to Kihae(CV6) locus every two days with 4 sessions of treatment during exposed to cold stress for 8 days.

S 2 : The group treated with api-toxin(Bee Venom from U.S.A) therapy to Kihae (CV6) locus every two days with 4 sessions of treatment during exposed to cold stress for 8 days.

* Statistically significant value compared with the control data of each group.(P<0.05)

3. 赤血球 溶血素價에 對한 效果

緬羊赤血球에 대한 抗體生産能을 比較하기 爲하여 緬羊赤血球에 對한 溶血素價를 測定하여

본 마 正常群은 4.9 ± 2.2 , 對照群은 2.9 ± 1.1 \log_2 titer이었으며 韓國産蜂毒鍼刺戟群 및 美國産蜂毒鍼刺戟群에서는 4.5 ± 1.4 , 4.4 ± 1.4 \log_2 titer로 對照群에 比하여 모두 增加하였으며 全體 實驗群 間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위하여 分散分析을 한 結果, F-value는 $2.49(P < 0.05)$ 로 有意성이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 의한 個別 比較에 있어서는 對照群에 比하여 韓國産 및 美國産 蜂毒鍼刺戟群에서 有意性 있는 差異가 없었고, 蜂毒鍼刺戟群 間에는 有意성이 없었다.(Table III)

4. 抗體產生細胞 形成에 對한 效果

緬羊赤血球에 對한 抗體產生細胞 (plaque-forming cells)數를 比較하고자 免疫시킨 4日後 PFC反應을 測定하였던 마 正常群은 21.4 ± 4.2 , 對照群은 $14.2 \pm 3.6 / 10^6$ spleen cells이었으며 韓國産蜂毒鍼刺戟群 및 美國産 蜂毒鍼刺戟群에서는 28.4 ± 7.5 , $22.2 \pm 6.2 / 10^6$ spleen cells로 對照群에 比하여 모두 增加하였으며, 全體 實驗群 間에 有意한 差異가 있는가를 檢定하기 위하여 分散分析을 한 結果, F-value는 $8.71(P < 0.05)$ 로 有意성이 認定되었다.

Duncan 檢定法에 의한 個別 比較에 있어서는 對照群에 比하여 韓國産 및 美國産蜂毒鍼刺戟群에서 有意性 있는 差異를 보였고, 蜂毒鍼刺戟群 間에는 有意성이 없었다.(Table IV)

Table III. Effects of Api-Toxin Therapy on Hemolysin Titer in Mice Exposed to Cold Stress.

Group	No. of animals	M \pm S.D (mm)	Duncan grouping
Normal	8	4.9 ± 2.2	a ¹⁾
Control	8	2.9 ± 1.1	b
S 1	8	4.5 ± 1.4	ab
S 2	8	4.4 ± 1.4	ab
F-value	2.49 *		

1) Means with the same letter are not significantly different

at $d=0.05$ level by Duncan test.

M \pm S.D. : Mean standard deviation of 8 mice.

Control : The group treated with 0.1ml saline injection to Kihae(CV6) locus every two days with 4 sessions of treatment during exposed to cold stress for 8 days.

S 1 : The group treated with api-toxin(Bee Venom from Korea) therapy to Kihae (CV6) locus every two days with 4 sessions of treatment during exposed to cold stress for 8 days.

S 2 : The group treated with api-toxin(Bee Venom from U.S.A) therapy to Kihae (CV6) locus every two days with 4 sessions of treatment during exposed to cold stress for 8 days.

* Statistically significant value compared with the control data of each group.($P < 0.05$)

Table IV. Effects of Api-Toxin Therapy on P.F.C. in Mice Exposed to Cold Stress.

Group	No. of animals	M \pm S.D (mm)	Duncan grouping
Normal	8	21.4 ± 4.2	a ¹⁾

Control	8	14.2±3.6	b
S 1	8	28.4±7.5	c
S 2	8	22.2±6.2	a
<hr/>			
F-value	8.71 *		

1) Means with the same letter are not significantly different

at d=0.05 level by Duncan test.

M±S.D. : Mean standard deviation of 8 mice.

Control : The group treated with 0.1ml saline injection to Kihae(CV6) locus every two days with 4 sessions of treatment during exposed to cold stress for 8 days.

S 1 : The group treated with api-toxin(Bee Venom from Korea) therapy to Kihae (CV6) locus every two days with 4 sessions of treatment during exposed to cold stress for 8 days.

S 2 : The group treated with api-toxin(Bee Venom from U.S.A) therapy to Kihae (CV6) locus every two days with 4 sessions of treatment during exposed to cold stress for 8 days.

* Statistically significant value compared with the control data of each group.(P<0.05)

IV. 考 察

蜂鍼療法은 약 2,000년前부터 民間療法^{6,30,43)}으로 사용되어 왔으며, 蜂鍼의 材料인 꿀벌로는 서양벌(Apis mellifera) 중 일벌만이 사용^{12,13)}되며, 벌의 鍼을 뽑아서 取穴하는 拔針法이나 벌을 穴位에 놓아 刺鍼하는 直刺法이 臨床에서 活用되고 있다.^{6,7)}

최근, 電氣抽出法이나 電磁波 刺戟法으로 蜂

毒을 抽出, 加工하여 乾燥 蜂毒을 生産하거나, 혹은 注射用으로 ampule에 保管하여 市販되고 있으므로^{2,11)} 蜂毒療法의 臨床的 活用이 容易해 졌다 하겠다.

蜂毒의 成分은 크게 enzymes, peptide components, non peptide components로 構成되어져 있으며, 이중 enzymes의 主要成分으로는 phospholipase A₂와, hyaluronidase를 들 수 있다.^{27,45)}

Enzyme 中 phospholipase A₂는 間接的 分解酵素로 作用하여 phospholipid의 細胞膜을 分解하고, 이로써 다른 細胞膜 融解酵素의 作用을 誘導함으로 脂肪酸의 分解에 最初의 連鎖反應을 誘導하는 物質이 된다. Hyaluronidase는 細胞膜의 가장 表層에 자리잡고 있는 muco- polysaccharide의 構成成分인 hyaluronic acid를 可水分解하는데 觸媒로 作用하여 蜂毒의 擴散을 도와준다.

Peptide components는 freeze-dried venom의 약50%를 構成하고 있으며, 主要成分으로는 mellitin, apamin, MCD peptide를 들 수 있고, 이들은 蜂毒의 特性을 說明하는데 큰 役割을 하고 있다. 그 中에서 가장 많이 分布하는 mellitin (40~50%)은 26개의 amino acid로 構成된 活性 peptide로 크게 溶血作用과 酵素作用을 하고 있다.

또한 血中分布가 낮을 때에는(0.5×10¹⁰~0.5×10¹¹g/ml) blood viscosity를 減少시키고, 높을 때에는(0.5×10⁸~0.5×10⁸g/ml) blood viscosity를 增加시키는 것을 顯微鏡的 分析으로 確認할 수 있는데²⁸⁾ 이는 血液 循環系 疾患에 治療的이면

서 毒性的인 兩面性을 지니고 있다. 또한 大食細胞의 移動을 強하게 抑制하며 리소솜 細胞膜을 安靜시켜 炎症을 抑制한다. Apamin은 神經系에 作用하며 過多한 量(0.5ml/100g)을 血管內에 注入하면 skeletal muscle에 痙攣을 誘發하고, 더 많은 量을 注入하면 呼吸不全을 일으켜 死亡하게 된다(LD₅₀=4mg/100mg).^{25,28,30)} MCD peptide는 mast cell의 溶解와 histamine 擴散을 增加시키는 作用이 있어 喘息, 發熱 等の allergy誘發에 關與한다고 報告되었다. Apamin과 MCD peptide는 細胞免疫學的 實驗과 動物實驗에서 腦下垂體와 副腎皮質을 興奮시켜 免疫機能을 增加시키고 (Interferon의 血中分布量을 增加시킴) prostaglandin E가 prostaglandin으로 合成되는 것을 抑制하여 鎮痛, 消炎效果를 나타내며, 巨核細胞의 移動을 抑制하고, 血漿蛋白質의 變成을 抑制하며, 白血球의 食作用을 抑制하고, 血漿의 纖維化를 低下시키는 效能이 立證되었다.

Non peptide components의 主要成分은 histamine, dopamine, noradrenaline으로 構成되어 있는데²⁵⁾, histamine은 한마리의 벌에 약 1.8~2.0 μ g이 含有되어 있으며 副交感神經 興奮劑인 acetylcoline과 類似한 作用을 한다. 즉, 平滑筋과 氣管支 및 胃腸管을 收縮시키고 母細血管을 擴張시켜 血壓降下를 招來하며, 또한 體內的 histamine受容體와 結合하여 allergy를 誘發한다고 믿어진다. 이에 過敏反應을 일으킬 경우 antihistamine劑의 服用이나 脫感作療法이 必要하

게 된다(LD₅₀=27mg/100g).

Dopamine은 norepinephrine의 前區物質로서 廣範圍한 生理的 作用을 하며, noradrenaline은 α , β 受容體에 作用하여 血管收縮作用과 出血防止, 炎症의 腫脹分泌를 減少시키고 有害한 藥物의 吸收도 減少시킨다.

이러한 成分들로 構成된 蜂毒은 약 2000年前부터 疼痛 및 炎症性 疾患에 使用되어져 왔고, 1870年代 英國의 Dr. Rucumkis가 “蜂針이 RA 및 gout에 미치는 效果”를 報告⁵⁾한 후부터 炎症性疾患에 有效함을 밝히는 論文이 많이 發表되어져 왔다.

벌에 쏘이면 蜂毒이 血中에 流入되어 血液循環을 通하여 腦下垂體를 刺戟하게 되면, adrenal cortico trophic hormone(ACTH)이 分泌되어 副腎皮質을 刺戟하므로 正常보다 2~3倍 가량 높은 血中 cortisol數值를 약 10日間 持續적으로 維持한다고 밝히고 있다.²⁵⁾

이에 蜂毒鍼刺戟이 免疫機能에 미치는 影響을 알아보고자 本 實驗을 施行하였다. 寒은 韓醫學에서 六氣中의 하나로 《素問 氣交變大論》에서 “歲火不及, 寒乃大行..., 病驚漉 腹滿 飲食不下 寒中 腸鳴泄注 腹滿 暴攣痿痺 足不任身”¹⁸⁾이라 했고, 《靈樞 刺節眞邪論》에 “虛邪之中人也... 與衛氣相搏... 陰勝者卽爲寒”⁹⁾이라 하여 外寒과 內寒이 各各 調和를 이루지 않고 太過나 不及한 狀況이거나 氣候變化가 지나치게 急驟하거나 劇烈한 경우, 人體의 抗病能力이 低下되어 그 異常氣候變化에 適應하지 못할 때 人體 正常 生理

機能의 協助平衡을 破壞함으로써 六淫의 邪로 作用하게 되는 것이다.⁵⁾ 河¹⁶⁾ 등의 報告에 依하면 寒冷刺戟이 寒冷의 露出時期와 時間에 따라 感染에 對한 感受性を 增加시키고 反面에 免疫 機能을 抑制시킨다고 하였다.

免疫機能에 對한 韓醫學的 研究는 藥物의 細胞性 및 體液性 免疫 效果와 NK細胞 活性도를 中心으로 하는 腫瘍 免疫에 觀한 實驗研究가 比較的 活發하였는데 高¹⁾는 人蔘水鍼이 細胞性 및 體液性 免疫機能低下를 抑制하여 免疫反應 增強 및 細網內皮系의 貪食能 增加效果를 報告하였고, 宋⁸⁾은 溫鍼이 methotrexate로 低下된 免疫 機能을 上昇시키고 巨食細胞의 貪食能 活性를 增加시켰으며, 또한 溫鍼, Laser鍼 및 豪鍼이 寒冷刺戟으로 低下된 免疫機能에 對해 細胞性 및 體液性 免疫反應을 增加시키는 效果가 있다고 報告하였다.

氣海(CV6)는 任脈의 穴로 調氣益元 培腎補虛 和營血의 穴性を 지니고 있으며 虛脫遺精 強壯 四肢無力 眞氣不足 등의 主治 效能이 있다.^{10,15,22,23)}

細胞性 免疫反應을 알아보기 위하여 Mitsuoka等³⁸⁾의 方法에 準하여 遲延型 過敏反應을 測定하고 Maluish等³⁷⁾의 方法으로 淋巴球 增殖反應을 測定하였다.

遲延型 過敏反應은 細胞性 免疫反應을 評價하는데 銳敏하고 代表的인 方法으로 抗原感作期나 反應誘導期에 있어서 T cell 依存性 現象이며³⁸⁾ T cell은 自身이 直接 過敏反應을 일으키는 것

이 아니고 感作된 T cell이 同種의 抗原에 다시 露出되면 淋巴球의 芽球化(Blast formation)가 일어나 細胞가 肥大해지며 核酸과 蛋白質의 合成이 增大되고 分裂을 始作하게 되며 이와 同時에 여러가지 活性物質을 放出하게 되는데, 그 中 可溶性 作用物質인 lymphokine은 大食細胞 및 多形核 白血球를 誘引하여 이들 細胞로 하여금 炎症反應 및 組織破壞와 같은 遲延型 過敏反應을 誘發하게 된다. 本 實驗에서 韓國產 蜂毒鍼刺戟群 및 美國產蜂毒鍼刺戟群 모두 對照群에 比해 有意性이 認定되는 增加를 보임으로써 感作 T 淋巴球의 活性 亢進이나 數的인 增加를 誘發시킨 것으로 認定된다.

淋巴球增殖反應은 淋巴球의 機能을 間接적으로 把握할 수 있는 方法의 하나로 利用되는데³⁹⁾ 이것의 增加는 淋巴球의 活性의 亢進이나 數的 增加를 反影한다. 淋巴球 增殖反應에 對한 結果를 보면 對照群에 比하여 韓國產蜂毒鍼刺戟群 및 美國產蜂毒鍼刺戟群이 모두 有意性 있는 增加를 보였으며 각 蜂毒鍼刺戟群 間의 有意性 있는 差異는 나타나지 않았다.

體液性 免疫反應을 알아보기 爲하여 赤血球 溶血素價, 그리고 Bacon 等²⁶⁾의 方法에 依하여 抗體產生細胞를 測定하였으며, 赤血球 溶血素價는 赤血球 表面抗原과 抗體의 結合體에 異種의 補體(Complement)가 加해짐으로써 생기는 赤血球 溶血反應을 測定하는 方法인데^{9,40)} 韓國產蜂毒鍼刺戟群 및 美國產蜂毒鍼刺戟群이 모두 對照群에 比해 有意한 差異는 없었으나 對照群보다

增加하는 傾向을 보였다. 抗體產生細胞 形成에 서는 對照群에 比하여 蜂毒鍼刺戟群 모두 有意性 있는 增加를 보였다.

以上の 結果로 보아 氣海에 對한 蜂毒鍼刺戟은 寒冷刺戟으로 因한 細胞性 및 體液性 免疫機能 低下에 對한 增強, 恢復 效果가 있다고 認定되므로 蜂毒鍼刺戟은 寒冷刺戟으로 誘發되는 各種 疾患의 治療에 應用될 수 있을 것으로 思慮되며 이에 對한 깊은 研究가 期待된다.

V. 結 論

蜂毒鍼刺戟이 생쥐의 免疫機能에 미치는 影響을 觀察하기 爲하여 -20°C 에서 1日 2回 各各 30分間 8日 동안 寒冷刺戟을 주면서 이와 竝行하여 一定 時刻에 2日 1回씩 韓國産蜂毒 0.1ml (0.2mg/1ml/10g) 및 美國産蜂毒 0.1ml(0.2mg/1ml/10g)를 4回 氣海(CV₆)에 相應하는 部位에 一定한 方法으로 蜂毒鍼刺戟을 준 후 遲延型 過敏反應, 淋巴球 增殖反應, 赤血球 溶血素價, 抗體產生細胞 形成을 測定하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 遲延型 過敏反應은 對照群에 比하여 韓國産蜂毒鍼刺戟群 및 美國産蜂毒鍼刺戟群이 有意한 增加를 나타내었으나 두 蜂毒鍼刺戟群 間에는 有意한 差異가 없었다.

2. 淋巴球 增殖反應은 對照群에 比하여 韓國産蜂毒鍼刺戟群 및 美國産蜂毒鍼刺戟群에서 有意性 있는 增加를 보였다.

3. 赤血球 溶血素價는 對照群에 比하여 韓國産蜂毒鍼刺戟群 및 美國産蜂毒鍼刺戟群에서 有意한 差異가 없었다.

4. 抗體產生細胞 形成은 對照群에 比하여 韓國産蜂毒鍼刺戟群 및 美國産蜂毒鍼刺戟群에서 有意性 있는 增加를 보였다.

參 考 文 獻

1. 高敬錫: 人蔘水鍼이 Methotrexate를 投與한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙韓醫大 論文集, 11:37-54, 1988.
2. 金文昊: 蜂毒療法과 蜂鍼療法, 韓國教育企劃, 서울, pp.95~103, 1992.
3. 金滌琛: 統計學, 中央適性出版社, 서울, pp. 321~347, 481~484, 1986.
4. 金完熙外: 韓醫學原論, 成輔社, 서울, pp.282~283, 1982.
5. 文濬典外: 東醫病理學, 高文社, 서울, p.10, 11, 27, 28, 36, 1990.
6. 성은찬: 난치병의 蜂鍼療法, 전국농업기술자 협회출판부, 서울, p.48, 59, 166, 228, 1985.
7. 성은찬: 알기 쉬운 蜂鍼療法, 전국농업기술

- 자협회출판부, 서울, p.35, 1990.
8. 宋允熙: 溫鍼, 레이저鍼 및 毫鍼이 寒冷刺戟으로 低下된 생쥐의 免疫機能에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院 博士學位論文, 1992.
 9. 李淵臺: 最新免疫學, 集文堂, 서울, pp.382~384, 1982.
 10. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室: 鍼灸學(上下), 集文堂, pp.489~490, 730~732, 1017~1020, 1048~1049, 1988.
 11. 崔大鳳: 養蜂 協會報, 韓國養蜂協會, 1986.12 月號
 12. 崔承允: 양봉 새기술, 農畜産物 技術資源研究所, 서울, p.48, 1989.
 13. 崔承允: 양봉, 꿀벌과 벌통, 五星出版社, 서울, pp.117-118, 1987.
 14. 崔容泰外 : 精解針灸學 杏林出版社, 서울. pp379, 554, 555, 1986.
 15. 崔容泰外: 最新鍼灸學, 成輔社, 서울, pp.349, 93,94,526,527,537~540, 1983.
 16. 河大有, 李黃浩 : 熱 및 寒冷 stress가 마우스의 免疫反應에 미치는 影響, 대한미생물학회지, 18:137, 1993.17. 河大有: 大韓微生物學會誌, Vol.18,No.1,pp.138~139, 1984.
 18. 洪元植d : 黃帝內經素問, 東洋醫學研究院, 서울, p.11,131,163,285, 1981.
 19. 洪元植: 黃帝內經靈樞, 東洋醫學研究院, 서울, p.11,213,317, 1981.
 20. 楊繼洲 針灸大成, 서울, 杏林出版社, p193, 218. 1984.
 21. 莊育民: 中國針灸學發展史, 臺北, 裕臺公司, pp.9-10, 1978
 22. 楊繼洲: 針灸大成, 서울, 大成文化社, pp134~135. 1984.
 23. 嚴宗正: 正邪論新釋, 新中醫, 6:5, 1984.
 24. 張笑平: 鍼灸作用機理研究, 安徽省, 安徽科學技術出版社, pp.184~203, 1983.
 25. Assen. E. SK. et al : A peptide from the venom of the Honey Bee, Br. Pharmacol, pp.337-338, 1973.
 26. Bacon, L.D., Heizerling, R.H.: Hemolytic-plaque techniques and antigenbinding lymphocyte assay in method in immunodiagnosis, Rose, N.R. and Bigazzi, P.E. eds., John Wiley and Sons. NY, pp.45~48, 1980.
 27. Banks, Brown : Some peripheral activities of Apamin, Toxicon Suppl, p.4,17, 1976.
 28. Barbara, Rudolf : Chemistry and Pharmacology of Honey Bee Venom, Academic Press, pp.329-402, 1986.
 29. Biozzi, G. et al.: A kinetic study of antibody producing cells in the spleen of mice immunized intravenously with sheeperythrocytes, Immunol. 14:7~20, 1968.
 30. B. N. ORLOV. : Effect of Bee Venom on Blood Circulation and Rheologic Properties of Blood. Apiacta, USSR, pp117-119, 1984.
 31. Claman, H. N. et al.: Thymus marrow cell

- combinations, synergism in antibody production, Soc. Exp. Biol, Med. Proc., 122: 1167, 59: 83~87, 1966.
32. Clark, W. R.: Hypersensitivity reactions in the experimental foundations of Modern immunology, New York, John Wiley & Sons Inc., pp.166~167, 1983.
33. Crowle, A. J.: Delayed hypersensitivity in the mouse, Adv. Immunol., 20:197, 1975.
34. Davis, A.J.S. et al: The failure of thymus-derived cells to produce antibody, Transplantation, 5:222; 1967.
35. Gillis, S., Ferm, M.M., Ou, W., Smith, K.A.: T cell growth factor; parameters of production and a quantitative microassay for activity. J. Immunol, 120:1245, 1978.
36. Gullberg, M., Larsson, E-I: Studies on induction and effector functions of concanavalin A-induced suppressor cells that limit TCGF production. J. Immunol., 128:746~750. 1982.
37. Maluish, A. E., Strong, D. M.: Lymphocyte proliferation, in Manual of Clinical Laboratory Immunology, 3rd edn. (eds, Rose, N. R. et al) American Society for Microbiology, Washington, D.C., pp.274~281, 1986.
38. Mitsuoka A.T. et al : Delayed hypersensitivity in mice induced by intravenous sensitization with SRBC, evidence for tuberculin type delayed hypersensitivity of reaction, Immunol. 34:363~370, 1978.
39. Mooler, G.: Lymphocyte activation by mitogens Transplant. Rev., vol.11, 1972.
40. Nowothy, A.: Antigen-Antibody interactions in basic exercises in immunochemistry, Springer Verlag Berlin Heidelberg, N.Y. pp.217~271, 285~287, 1979.
41. Revillard, J.P. : Investigation of delayed hypersensitivity in man in immunology, New York, John Siley & Sons Inc., pp.393~394, 1982.
42. Sell, S.: Cell-mediated immunity in vitro in immunology, immunopathology and immunity, Hagerstown, Maryland, Apers & Row Puv., pp.144~171, 1980.
43. Tom, Piek. : Venom of the Hymenoptera, Academic Press, London, pp.107-120, 1986
44. Wing, E. T. et al.: Delayed hypersensitivity reactions in basic and clinical immunology, California, Lange Med, Pub., pp.129~134, 1980.
45. Winter, C. A., Risley, E. A.: J. Pharmacol Except, p.141, 369, 1963.
46. Zaalberg, O. B.: A simple methods for detecting single antibody forming cells, Nature, 202:1231, 1964.