

# 족삼리혈 뜸자극이 흰쥐 비장 자연살해세포 활성화에 미치는 영향

최기순 · 오상덕 · 한재복 · 이기석 · 박준하 · 배현수<sup>1</sup> · 정승기<sup>2</sup> · 안현종<sup>3</sup> · 조영욱<sup>4</sup> · 민병일\*

경희대학교 대학원 동서의학과, 1: 한의과대학 생리학교실,  
2: 한의과대학 내과학교실, 3: 의과대학 미생물학교실, 4: 의과대학 생리학교실

## Effects of Moxibustion to Zusanli(ST36) on Alteration of Natural Killer cell Activity in rat spleen

Gi Soon Choi, Sang Deog Oh, Jae Bok Han, Gi Seog Lee, Joon Ha Park, Hyun Su Bae<sup>1</sup>,  
Sung Ki Jung<sup>2</sup>, Hyun Jong Ahn<sup>3</sup>, Young Wuk Cho<sup>4</sup>, Byung Il Min\*

Department of East-West Medicine, Graduate School, 1: Department of Physiology, College of Oriental Medicine,  
2: Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, 3: Department of Microbiology, College of Medicine,  
4: Department of Physiology, College of Medicine, Kyunghee University

Moxibustion is one of major healing technique in oriental medicine. It has been widely used in many diseases such as rheumatoid arthritis, Hashimoto disease, breech presentation, etc. However, till now, effects of moxibustion on NK cell activity and relations between sympathetic nerve system(SNS) and the immune alteration induced by moxibustion were not well studied. This study was designed to evaluate effects of moxibustion on NK cell activity and the intervention of SNS in the alteration of NK cell activity induced by moxibustion. Splenic NK cytotoxicity was measured in a standard 4-h 51Cr release assay. We measured the NK cytotoxicity at after moxibustion stimulation for 1,3,5, and 7 days, and also measured the NK cell cytotoxicity after 3 and 7 days burn stimulation with similar temperature. IL-2, IL-4, INF- $\gamma$  in serum were measured by rat IL-2, IL-4, INF- $\gamma$  ELISA TEST KIT. To evaluate the effects of sympathectomy on alteration of NK cell cytotoxicity, 6-hydroxydopamine(6-OHDA : 50mg/kg) was used. We showed that NK cell activity of moxibustion stimulation group increased at the 3rd day, and declined at 7th day in comparison with that of contol group. In moxibustion stimulation group, NK cell activity of 3 day stimulation group was significantly higher than sham group. On the contrary, in burn stimulation group, NK cell activity was significantly higher than that of sham groups at 3rd, 7th days. Patterns between moxibustion and burns were different. INF- $\gamma$  level of 3 days moxibustion stimulation group significantly higher than sham group. IL 2 level among groups were not different. IL-4 was not detected in serum with this method. Sympathectomy abolished the NK cell activity alteration induced by moxibustion. The results suggest that moxibustion induces the alteration of NK cell activity, along with INF- $\gamma$  and SNS is related to these effects.

Key words : Moxibustion, NK cell activity, INF-gamma, sympathectomy.

### 서 론

뜸은 한의학에서 있어서 중요한 치료수단의 하나이다. 이것은 쑥(*Artemisia princeps* var. *orientalis*)을 혈자리에 놓아서 불을 붙여 혈자리를 따뜻하게 자극하는 방법이다. 뜸은 류마치스성 관절염이나 하시모토병, 태위이상 등에 다양하게 쓰이고 있다<sup>1,2,3</sup>. 몇몇의 논문에서 뜸은 면역반응과 관련있다고 보고하고 있

다. Hau DM 등은 뜸이 방사선 조사로 저하된 세포성 면역반응을 회복시키는 효과가 있다고 보고하였다<sup>4</sup>. Tang Z 등은 뜸이 Concanavalin A (ConA)로 자극한 림프구의 증식을 증강시키고, Interleukin 2를 증가시키고, Interleukin 1을 감소시킨다고 보고하였다<sup>5</sup>. Zhai D 등은 또한  $\beta$ -endorphin과 ACTH가 뜸자극으로 유도된 면역반응과 관련있다고 제시하였다<sup>6</sup>. 이러한 연구들은 뜸이 면역반응에 영향을 미친다고 하는 것을 제시하는 것으로 사료된다. 자연살해세포(NK cell)는 면역에 있어서 숙주를 보호하고, 암이나 감염에 중요한 역할을 한다는 것은 잘 알려져 있는 사실이며, 자연살해세포는 초기 면역반응에서 감염인자에 대

\* 교신저자 : 민병일, 서울시 동대문구 회기동 1 경희의료원 동서의학연구소

E-mail : mbi@khu.ac.kr, Tel : 02-961-0286

· 접수 : 2001/01/07 · 수정 : 2002/02/22 · 채택 : 2002/03/20

항하는 일차적 방어선을 차지하고 있다<sup>10,11,12</sup>. noradrenergic 신경섬유는 일차 및 이차 면역기관에 분포하고 있으며, 절후성 교감신경이 비장에 연계하고 있다. norepinephrine(NE) 신경말단은 비장의 부동맥성 림프관에 연결되어 있으며, 림프구, 자연살해세포, 대식세포에는  $\beta$ -2-adrenergic 수용기와  $\alpha$ -adrenergic 수용기가 발현되어 있는 것 또한 잘 알려진 사실이다<sup>14,15</sup>. 그러나, 지금까지 뜬이 자연살해세포에 미치는 영향과 교감신경계가 뜬에 의한 면역변조에 미치는 영향에 관해서는 연구된 바가 거의 없었다. 따라서, 본 연구에서는 뜬이 자연살해세포 활성화에 미치는 영향과 교감신경이 뜬에 의한 면역변조에 어떻게 영향을 미치는 지를 살펴보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 동물

Sprague-Dawley 계의 흰쥐를 Charles River Korea Inc.(Kyunggi, Korea)로부터 구입하여 사용하였으며, 모두 음성으로 실험 시작 당시 7주령을 사용하였다. 쥐들은 각각 따로 플라스틱 케이지에 담아 적절한 시설에서 사육하였다(12h dark/12h light cycle, 25±2°C, 55±10% humidity). 또한, 물과 먹이는 수시로 충분히 공급하였다.

### 2. 뜬자극 및 화상 자극

흰쥐를 홀더에 넣고 직구로(0.05g 쌀알모양, 9장/1일) 우측 족삼리혈(ST36)을 자극하였다. 화상자극은 뜬자극의 평균 온도와 같은 420°C 온도로 전열기를 이용하여 족삼리혈에 뜬자극과 같은 시간 자극하여 화상을 만들었다.

### 3. 자연살해세포 활성 측정

비장의 NK cell activity는 표준 4h-51Cr release 분석법으로 측정하였다. 간략하게 요약하면 비장을 멸균 방법으로 적출하여 10ml의 배지에 single cell 현탁액을 만든다. 적혈구는 버린후에 effector cell의 현탁액을 phosphate-buffered saline(PBS)으로 2번 더 씻는다. 적절한 농도로 배지에다 다시 부유시킨다. 방사선 표지를 단 YAC-1 세포인 쥐의 림프종양세포는 target cell로 사용되어진다. 적당한 농도로 섞은 100 $\mu$ l의 effector cell과 51Cr을 표지한 50 $\mu$ l(2×10<sup>5</sup> cells/ml)의 Target cell을 96-well의 U-형 바닥의 microtiter 플레이트에 배양시킨다. 이때 effector와 target cell을 10:1, 30:1 그리고 100:1로 다양한 비율로 사용한다. 플레이트는 4시간 동안 37°C로 5% CO<sub>2</sub>에 배양한 후 각각의 well에서 수집한 100 $\mu$ l의 상청액을 나눠서 5분간 원심분리를 한다(400×g for 5 min). 51Cr 방출은 감마 카운터 계측기를 사용하여 측정한다. 또한 이 상청액을 나눠서 배지나 1N HCl에서 배양하여 자발방출과 최고 방출량을 결정한다. 자발방출은 보통 최고 방출의 8에서 18%에 해당한다. Percent specific lysis 다음 공식에 의해 얻어진다.

$$\text{Percent specific lysis} = \frac{(\text{experimental } 51\text{Cr release} - \text{spontaneous } 51\text{Cr release})}{(\text{maximum } 51\text{Cr release} - \text{spontaneous } 51\text{Cr release})} \times 100.$$

자연살해세포 활성은 Lytic Unit(LU)으로 표시된다. 1 LU는 50%의 specific lysis에 필요한 effector 세포의 숫자인데 결과적으로 total LU10은 effector 세포 106 가 1LU10의 몇배에 해당하는지를 나타낸다.

### 4. T, B 세포 증식능 측정

비장을 무균적으로 떼어낸 다음 single cell 혼탁액으로 준비한다. 적혈구를 Lympholyte-M을 사용하여 비장세포 전체에서 제거하고, 나머지 림프구를 penicillin (100 U/ml)과 streptomycin (100  $\mu$ g/ml)이 섞인 10% fetal calf serum이 혼합된 RPMI-1640으로 재부유 시킨다. 세포들은 96 well plate(Falcon, U.S.A)에 배지 단독 혹은 Sigma (St. Louis, MO, U.S.A)에서 구입한 T-cell mitogen ConA (5  $\mu$ g/ml) 또는 B-cell mitogen LPS (10  $\mu$ g/ml)을 적절한 농도로 조절된 곳에 배양시킨다. 림프구는 48시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양시키고 1 mCi of [3H]-thymidine (New England Nuclear, Boston, MA, USA)으로 pulse한다. 하루밤 동안 배양시킨후 DNA안에 함유된 방사선 활동량을 liquid scintillation counter로 계산한다. 결과는 mean cpm ± SE로 표시하며 significant index(SI)는 결과를 각각 ConA5와 LPS10으로 나눈 값이다.

### 5. Interleukin 2(IL-2), Interleukin 4(IL-4), Interferon - $\gamma$ (INF- $\gamma$ ) 측정

IL-2, IL-4, INF- $\gamma$ 은 IL-2, IL-4, INF- $\gamma$  ELISA TEST KIT(Goma Biotec, Korea)을 이용하여 측정하였다. 이들 kit는 rat IL-2, IL-4, INF- $\gamma$ 에 각각 교차반응하는 antibodies를 사용하고 있다. 각각의 측정은 생산자의 프로토콜을 참조하여 측정하였으며, 2배수로 측정하였다.

### 6. 화학적 교감신경절제술

6-hydroxydopamine(6-OHDA : 50mg/kg)을 실험군에 복강내 주사로 3일간 매일 투여하였다. sham군에서는 생리식염수만을 같은 방법으로 투여하였다.

### 7. Norepinephrine(NE), Epinephrine(Epi)측정

실험 후 혈장을 분리하여 교감신경절제 여부를 확인하기 위하여 NE은 RIA TEST KIT(IBM Kat combi RIA kit, Korea)을 사용하였으며. 이 kit는 rat NE에 교차반응하는 antibodies를 사용하고 있다. 각각의 측정은 생산자의 프로토콜을 참조하여 측정하였으며, 2배수로 측정하였다.

### 8. 실험 디자인

1) 뜬이 자연살해세포 활성화에 미치는 영향을 평가하기 위하여 4군으로 나누고 각군에 5마리를 배정하였다. (a : 아무런 처치하지 않은 대조군, b : 홀더 스트레스만 준 sham group, c : 뜬자극군, d : 화상군)

2) 교감신경 절제가 뜬으로 인한 자연살해세포 활성의 변조에 미치는 영향을 평가하기 위하여 4군으로 나누었다. (a : 3일간 뜬자극군, b : 3일간 홀더스트레스만 준 sham군, c : 3일간 홀더스

트레스만 준 교감신경절제군, d : 3일간 뜰자극을 한 교감신경절제군)

9. 통계처리

실험 결과는 mean±standard error of mean(±SEM)으로 표시하였으며, 통계처리는 SPSS version 10.0(SPSS Inc, Chicago, USA)을 사용하였다. 통계방법으로는 Student t test, and one way ANOVA를 사용하였다.

결 과

1. 뜰자극 및 화상이 자연살해세포 활성화에 미치는 영향

Fig 1.에 나타난 바와 같이 뜰자극으로 인하여 자연살해세포 활성화는 3일간의 자극에서 증가하다가, 7일째에는 감소하는 경향을 보였다. 뜰자극군 중에서 3일간의 뜰자극군의 자연살해세포 활성화가 sham군 보다 유의하게 증가하였다. Sham군의 자연살해세포 활성화는 3일째 감소하다가 7일에 회복하는 경향을 보였으나 대조군과는 유의한 차이를 보이지는 않았다. Fig 2.에 나타난 바와 같이 뜰이나 화상자극에 의한 상처가 모두 4일경에 표피가 치유되었으며, 화상자극군은 3일간과 7일간에서 모두 sham군보다 유의하게 증가함을 보였다 (Fig. 1, 2).

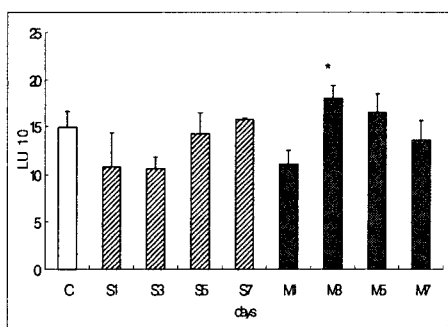


Figure 1. Effects of Moxibustion on NK cell activity. C : contol group, S : sham group, M : Moxibustion stimulation group, LU : lytic units(per 10<sup>6</sup> effector cells). A star above the bar shows M3 group significantly higher than S3 group.

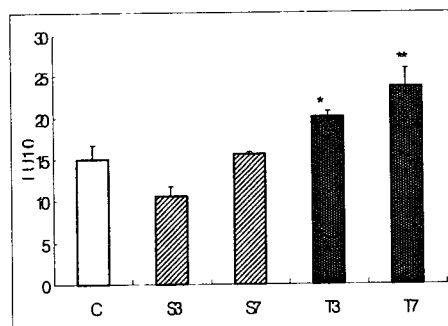


Figure 2. Effects of Burns on NK cell activity. C : contol group, S : sham group, T : Burns at ST36 point group, LU : lytic units(per 10<sup>6</sup> effector cells). A star above the bar shows T3 group is significantly higher than S3 group. Two stars above the bar show T7 group is significantly higher than S7 group.

2. 뜰자극이 T, B 세포 증식에 미치는 영향

뜰자극군의 T 세포 증식은 3일째에 증가하다가 5일째에 감

소하였다가 7일째에 다시 회복하는 경향을 보였으며, sham군도 3일째에 증가하다가 5일째에 감소하였다가 7일째에 다시 회복하는 경향을 보였다. 군사이의 차이는 유의하지 않았다. 뜰자극군의 B 세포 증식은 3일째에 증가하다가 5일째에 감소하였다가 7일째에 다시 회복하는 경향을 보였으며, sham군도 3일째에 증가하다가 5일째에 감소하였다가 7일째에 다시 회복하는 경향을 보였다. 3일간의 홀더스트레스를 준 sham군은 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다 (Fig. 3, 4).

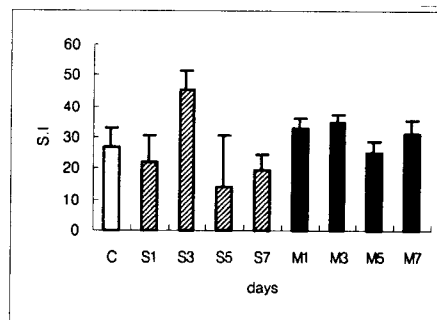


Figure 3. Effects of Moxibustion on T cell proliferation. C : contol group, S : sham group, M : Moxibustion stimulation group, S.I : significant index.

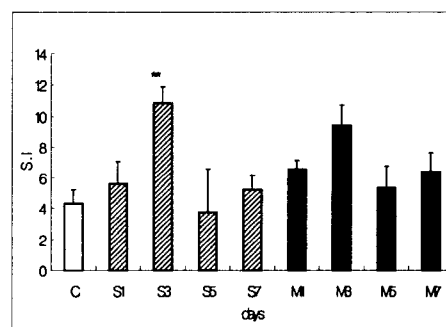


Figure 4. Effects of moxibustion on B cell proliferation. C : contol group, S : sham group, M : Moxibustion stimulation group, S.I : significant index. Two stars above the bar show S3 group significantly higher than control group.

3. 3일간의 뜰자극이 INF-γ, IL-2, IL-4에 미치는 영향

3일간 뜰자극의 INF-γ level은 홀더스트레스만 준 sham group 보다 유의하게 증가하였으며, IL-2은 차이를 보이지 않았다. IL-4 level은 혈장내에서 측정되지 않았다 (Fig. 5, 6).

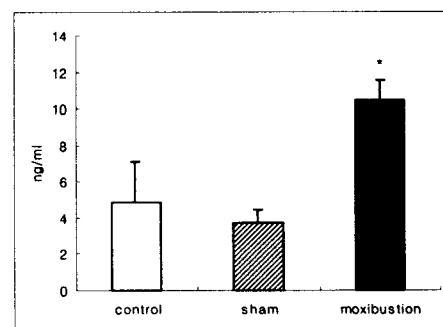


Figure 5. Effects of Moxibustion stimulation for 3 days on INF-γ. A star shows the difference between Moxibustion and sham group.(p < 0.05)

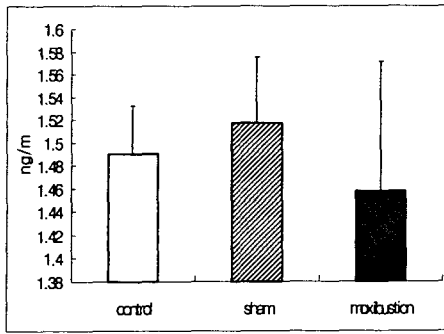


Figure 6. Effects of Moxibustion stimulation for 3 days on IL-2. There were no significant differences between groups.

4. 교감신경절제가 3일간 뜬자극군의 자연살해세포 활성의 변조에 미치는 영향

3일간의 뜬자극은 sham군에 비하여 유의하게 증가하였으며, 교감신경절제와 뜬자극을 한군은 교감신경절제와 홀더스트레스를 준 군과 차이를 보이지 않았으므로 뜬에 의한 자연살해세포 활성에 교감신경이 관여한다는 사실을 나타낸다. 교감신경절제의 여부는 혈장에서 NE level을 측정하여 확인하였다(자료는 제시하지 않음) (Fig. 7).

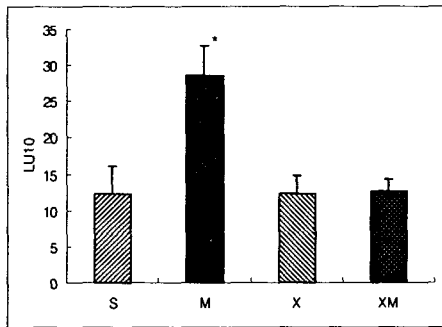


Figure 7. Effects of sympathectomy on alteration of NK cell activity induced by Moxibustion. M : Moxibustion stimulation for 3 days, S : sham group with only holder stress for 3 days, X : sympathectomised with holder stress for 3 days, XM : Moxibustion stimulation with sympathectomy, LU : lytic units(per 10<sup>6</sup> effector cells). A star above the bar show M group significantly higher than S, X, XM group.

고찰

이 연구에서 3일간의 뜬자극이 자연살해세포의 활성을 sham군에 비해 증가시켰으며, 이러한 효과가 7일에는 감소하는 것으로 나타났다. 반면에 홀더스트레스만 준 sham군의 자연살해세포의 활성은 대조군에 비해 3일째 감소하다가 5일, 7일에는 회복되는 경향을 보였다. Shavit 등은 움직일 수 없게 한 후 shock stress를 주면 자연살해세포의 활성이 떨어진다고 보고하였다<sup>14)</sup>. Seyle 또한 움직이지 못하게 하는 스트레스는 흥선의 발달을 저하시킨다고 보고하였다<sup>15)</sup>. Sham군의 자연살해세포의 활성의 감소는 스트레스로 인한 것으로 추정되며, 7일째의 회복은 이러한 스트레스에 대한 적응으로 여겨진다.

또한, 3일간의 뜬자극은 자연살해세포의 활성을 sham군에 비하여 증가시켰다. 이러한 효과에 관여하는 기전을 규명하기 위하여 cytokine을 측정하였으며, INF- $\gamma$  level이 sham군보다 유

의하게 증가하는 것으로 나타났다. INF- $\gamma$ 가 자연살해세포의 활성에 매우 중요하게 관여한다는 사실은 잘 알려진 사실이며, INF- $\gamma$ 의 증가가 이러한 효과에 관여하는 것으로 추정된다. IL-12는 T helper 1 세포의 분화에 중요한 역할을 하며, INF- $\gamma$ 의 생산에 촉진하는 중요한 cytokine이다<sup>13)</sup>. 아마도 IL-12가 관여할 것으로 추정되며, 차후의 연구가 필요할 것으로 추정된다. 반면에 화상 자극은 3일간과 7일간에서 모두 sham군보다 증가하는 경향을 보였다. 본 연구에서는 뜬자극이나 화상 모두 상처 후 4일 경에 치유되는 것으로 보았을 때 뜬과 화상은 다른 기전으로 자연살해세포를 활성화시킬 수 있는 가능성을 제시한다. 교감신경절제에 관하여 살펴보면 이번 실험에서는 홀더스트레스만 준군과 교감신경절제와 홀더스트레스를 준 군 사이에는 차이가 나타나지 않았다. Irwin M 등은 두개강내에 corticotropin-releasing factor(CRF), 즉 nonadrenergic 촉진제를 주입하면, 용량에 의존하는 자연살해세포의 활성의 억제가 발생한다고 보고하였으며<sup>19)</sup>, Irwin M 등 또한 화학적 교감신경절제에 의하여 CRF로 유도된 자연살해세포의 활성의 억제가 일어난다고 보고하였다<sup>20)</sup>. 하지만, Rice PA 등은 이와 달리 교감신경절제가 자연살해세포의 활성에는 영향을 미치지 않는다고 보고 하였다<sup>21)</sup>. 이와 같이 여러 연구가 차이를 보이고 있다. 본 연구에서는 교감신경절제가 자연살해세포의 활성에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 우리는 족삼리에 3일간 뜬자극을 하면 3일째 자연살해세포 활성이 증가되는 결과를 이용하여, 교감신경절제가 자연살해세포 활성에 영향을 미치는가를 확인하였다. 만일, 교감신경이 뜬자극에 의한 자연살해세포의 활성에 영향을 미치지 않는다면, 교감신경절제 후 뜬자극군의 자연살해세포 활성은 교감신경을 절제하지 않은 군에게 뜬자극을 한 군과 같아야 할 것이다. 그러나, Fig 7.에서 같이 본 연구에서는 뜬자극 후의 자연살해세포의 활성 변조가 교감신경절제로 인하여 없어진다는 점에서 볼 때, 이러한 뜬자극의 자연살해세포 활성의 변조에 교감신경이 관여하는 것으로 추정된다.

이러한 교감신경계의 효과에는 nonadrenaline성 신경 뉴런의 말단의 신경전달물질이 관여할 것으로 추정되기도 하며, Irwin M 등은 혈장내 neuropeptide Y(NPY)가 자연살해세포의 활성과 관련있다고 보고하였으며<sup>21)</sup>, Romano TA 등은 NPY를 분비하는 신경이 쥐 비장에 분자하고 있다고 보고하였다<sup>24)</sup>. Lundberg JM 등도 돼지에서 비장내 NPY 축적이 비장신경을 전기자극 후 증가하였다고 보고하였다<sup>25)</sup>. 차후의 연구가 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

결론

1,3,5,7일간의 뜬자극 중 3일간의 뜬자극은 sham군에 비해 자연살해세포 활성의 유의한 증가를 보였으며, 3일과 7일간 비슷한 온도의 열자극으로 화상을 입힌 군에서는 3일과 7일 모두에서 자연살해세포 활성이 증가하였다.

즉, 3일간의 뜬자극은 자연살해세포의 활성화를 유도하였으며, 이러한 효과에는 INF- $\gamma$ , 교감신경계가 관여하는 것으로 추정된다.

## 감사의 글

본 연구는 한국과학재단 목적기초(No.2000-2-21300-009-3) 지원으로 수행되었음.

## 참고문헌

- Liu X, Sun L, Xiao J, Yin S, Liu C, Li Q, Li H, Jin B. Effect of acupuncture and point-injection treatment on immunologic function in rheumatoid arthritis. *J of Tradit Chin Med*; 13: 174-81, 1993.
- Hu G, Chen H, Hou Y, He J, Cheng Z, Wang R : A study om the clinical effect and immunological mechanism in the treatment of Hashimoto's thyroiditis by moxibustion, *J Tradit Chin Med*, 13:14-8, 1993.
- Kanakura Y, Kometani K, Nagata T, Niwa K, Kamatsui H, Shinzato Y, Tokunaga Y : treatment of breech presentation. *Am J Chin Med* 29:37-45, 2001.
- Hau DM, Wu JC, Chang YH, Hwang JT : Effects of moxibustion on cellular immunocompetence of gamma-irradiated mice. *Am J Chin Med* 17(3-4):157-163, 1989.
- Tohya K, Mastrogiovanni F, Sugata R, Ohnishi M, Kuroiwa K, Toda S, Kimura M, Kawamata J : Suppression of the DTH reaction in mice by means of moxibustion at electro-permeable points. *Am J Chin Med* 17:139-144, 1989.
- Tang Z, Song X, Li J, Hou Z, Xu S : Studies on anti-inflammatory and immune effects of moxibustion. *Zhen Ci Yan Jiu* 21:67-70, 1996.
- Zhai D, Din B, Liu,R, Hua,X, Chen H : Regulation on ACTH, beta-EP and immune function by moxibustion on different acupoints. *Zhen Ci Yan Jiu*, 21, 1996.
- Zhai D, Chen H, Wang R, Hua X, Ding B, Jiang Y. : Regulation on beta-END in tumor-bearing mice by moxibustion on Guanyuan point. *Zhen Ci Yan Jiu* 19:63-65, 1994.
- Xiao J, Liu X, Sun L, Ying S, Zhang Z, Li Q, Li H, Jin B, Wang S. : Experimental study on the influence of acupuncture and moxibustion on interleukin-2 in patients with rheumatoid arthritis. *Zhen Ci Yan Jiu*; 17: 126-128, 132. 1992.
- Herberman RB, Ortaldo JR : Natural killer cell :their roles in defence against disease. *Science* 214:24-30, 1981.
- Bruce SM, Christine AB, Kenneth WB, Karren B, William HC, Firdaus SD, Ronald HG, Richard PK, Andrew HM, Robert LS, Jay MW : The role adrenocorticoid as modulators of immune function in health and disease : neural, endocrine and immune interactions. *Brain Res Rev* 23:79-133, 1997.
- Segal DM and Snider DP : rgeting and activation of cytotoxic lymphocytes. *Chem. Immun.* 47:179-213, 1989.
- Ye J, Ortaldo JR, Conlon K, Winkler-Pickett R, Young HA : Cellular and molecular mechanism of INF-gamma production induced by IL-2 and IL-12 in a human NK cell line. *J Leukoc Biol* 58: 225-233, 1995.
- Shavit Y, Lewis JW, Terman GW : Opioid peptide mediate the suppressive effect of stress on natural killer cell cytotoxicity. *Science* 223:188-190, 1984.
- Seyle HA : A syndrome produced by diverse nocuous agents, *Nature*, 138:32, 1936.
- Hiroyuki K, Makiko K, David NH, Richard BP, Fujio S : Susceptibility of thermally injured mice to cytomegalovirus infection. *Burns* 27:675-680, 2001.
- Clerici M, Shearer GM : A Th1?Th2 switch is a critical step in the etiology of HIV infection. *Immunol Today*; 14:107-11,15, 1993.
- Del Prete G, Romagnani S.:The role of Th1 and Th2 subsets in human infectious diseases. *Trends Microbiol* 2:4-6, 1994.
- Irwin M., Hauger R. L., Jones L., Provencio M., Britton K. T.: Sympathetic nervous system mediates central corticotropin-releasing factor induced suppression of natural killer cytotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther*; 255: 101-7, 1990.
- Irwin M, Hauger RL, Brown M : Central corticotropin-releasing hormone activates sympathetic nervous system and reduces immune function : increased responsivity of aged rats. *Endocrinology* 131:1047-53, 1992.
- Irwin M, Brown M, Patterson T, Hauger R, Mascovich A, Grant I : Neuropeptide Y and natural killer cell activity : finding in depression and Alzheimer caregiver stress. *FASEB J* 5:3100-7, 1991.
- Take S, Mori T, Katafuchi T, Hori T : Central interferon-alpha inhibits natural killer cytotoxicity through sympathetic innervation. *Am J Phsiol*, 265:453-459, 1993.
- Lundberg JM, Rudehill A, Sollevi A, Theodorsson-Norheim E, Hamberger B : Frequency- and reserpine- dependant chemical coding sympathetic transmission : differential release of noradrenaline and neuropeptide Y from pig spleen. *Neurosci Lett* 63:96-100, 1986.
- Romano TA, Felten SY, Felten DL, Olschowska JA : Neuropeptide Y innervation of the rat spleen: another potential immunomodulatory neuropeptide. *Brain Behav Immun* 5:116-31, 1991.
- Mosmann TR, Coffman RL : Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 7:145-73, 1989.
- Romagnani S, Parronchi P, DElios MM, et. al. : An update on human Th1 and Th2 cells. *Int Arch Allergy Immunol* 113: 153-6, 1997.

27. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 136:2348-57, 1986.
28. Scott P, Kaufmann SHE : The role of T-cell subsets and cytokines in the regulation of infection. *Immunol Today* 12: 346-8, 1991.
29. Felten DL : Neurotransmitter signaling of cells of the immune system : important progress major gaps. *Brain Behav Immun* 11:167-84, 1996.
30. Felten D, Felten S, Bellinger DL, Carlson SL, Ackerman KD, Madden K, Olschowski JA, Livnat S. : Nonadrenergic sympathetic neural interaction with immune system : structure and function. *Immunol. Rev.* 100,225-260, 1987.
31. Madden K, Felten S, Felten D, Hardy C, Livnat S : Sympathetic nerve system modulation of immune system. II: Induction of lymphocyte proliferation and migration in vivo by chemical sympathectomy. *J Neuroimmunol.* 49 ; 67-75, 1994.
32. Rice PA, Boehm GW, Moynihan JA, Bellinger DL, Stevens SY : Chemical sympathectomy increases the innate immune response and decreases the specific immune response in the spleen to infection with *Listeria monocytogenes*. *J Neuroimmunol* 114:19-27, 2001.
33. Madden KS, Stevens SY, Felten DL, Bellinger DL. : Alterations in T lymphocyte activity following chemical sympathectomy in young and old Fischer 344 rats. *J Neuroimmunol* 103(2):131-45, 2000.
34. Kruszewska B, Felten SY, Moynihan JA: Alterations in cytokine and antibody production following chemical sympathectomy in two strains of mice. *J Immunol* 155:4613-20, 1995.
35. Engvall E, Perlman, P : Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA): Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry* 8:871-879. 1971.
36. Henney CS, Kuribayashi K, Kern DE, and Gillis S : Interleukin-2 augment natural killer cell activity. *Nature* 291:335-338, 1981.