

원저

Duplex Stainless Steel(DSS) 침의 생화학적 안전성

육근영^{1,2} · 이승호¹ · 김영곤³ · 이승현^{1,2} · 홍상민^{1,4} · 임사비나^{1,2,4}

¹경희대학교 동서의학연구소
²경희대학교 한의과대학 한방응용의학과
³인제대학교 의용공학과
⁴경희대학교 기초한의과학과 한의학연구소

Abstract

Biochemical Safety of Duplex Stainless Steel Acupuncture Needle

Yook Keun-yung^{1,2}, Lee Seung-ho¹, Kim Young-kon³, Lee Seung-heon^{1,2},
Hong Sang-min^{1,2} and Lim Sabina^{1,2,4}

¹East West Medical Research Institute, Kyung Hee University

²Dept. of Applied Medicine, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University

³Dept. of Biomedical Engineering, Inje University

⁴Institute of Oriental Medicine, Dept. of Basic Oriental Medical Science Kyung Hee University

Objectives : The aim of this study is to investigate the safety of Acupuncture needles made from duplex stainless steel.

Methods : In order to check the safety concern of the DSS Acupuncture needle, we employed biochemical measures. DSS and SS304 Acupuncture needles were tested for pH level, heavy metals and UV absorbance spectrum along with cytotoxicity and hemolysis. As a guideline, we have referred to the 'standards for acupuncture needles', 'standards for disposable needles' and 'standards and experimental procedures for stents' for the Korean Food & Drug Administration(KFDA).

Results & Conclusions : The DSS Acupuncture needle extract satisfied these requirements. There was no significant difference between the DSS and SS304 Acupuncture needle extract. In conclusion, the DSS Acupuncture needle displayed biochemical safety.

Key words : DSS, SS304, cytotoxicity, hemolysis

* 이 논문은 2005년 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단과 경희대학교의 지원을 받아 수행되었음 (KRF-2005-005-J00702)

· 접수 : 2007년 11월 12일 · 수정 : 2007년 11월 22일 · 채택 : 2007년 11월 23일

· 교신저자 : 임사비나, 서울시 동대문구 회기동 1 경희대학교 한의과대학 기초한의과학과 경혈학교실

Tel. 02-961-0324 E-mail : lims@khu.ac.kr

I. 緒 論

온침은 호침을 자입한 후 침병에 뜸을 올려놓고 연소시켜 가온하는 치료방법으로 열이 침을 따라 전달되어 적당한 온열감을 줌으로써 침과 뜸의 효과를 동시에 볼 수 있는 치료법이다^{1,2)}. 이러한 전통적 온침 기술방법은 침 소재³⁾, 뜸의 형태⁴⁾와 밀도^{5,6)} 및 침병에 올려놓은 뜸과 체표면 사이의 거리에 따라 인체에 전달되는 온도가 다르므로, 시술자의 숙련도에 따라 효능의 차이가 발생할 수 있다.

전통적 온침 기술방법을 개선하기 위하여 개발된 지능형온침자극기는 기존의 복사 또는 전도현상을 통한 열전달 방식⁷⁾이 아니라 자성 천이형 발열체를 소재로 한 침에 전자기 유도가열현상을 이용하여 열을 발생시키는 원리를 바탕으로 하고 있다. 자성 천이형 발열체에 대한 전자기 유도가열방식의 특성상 일정온도를 임의로 조절 및 유지할 수 있으며, 썩뜸을 태울 때의 연기가 발생하지 않는 장점이 있다.

한편 현재 상용되는 304, 316L stainless steel(SS304, SS316) 침과 달리 Duplex stainless steel(DSS) 침은 전자기장 안에 놓였을 때 가열되는 특성이 있어 본 기기를 이용한 온침기술에서 발열체로 적합⁸⁾하지만, 침으로는 처음 사용되는 소재이므로 본 연구에서는 DSS 침의 생화학적 측면에 대한 소재의 안전성을 알아보았다. 식품의약품안전청(식약청)의 ‘침고시’⁹⁾에서는 침의 물리적 특성에 대해 규정하고 있으므로, 생화학적 특성을 알아보고자 하는 본 연구에서는 1회용 침과 유사한 1회용 주사침 및 스텐트(stent)에 관한 식약청의 의료기기 규정¹⁰⁾을 바탕으로 DSS 침의 생화학적 안전성을 평가하였으며, 상용되는 SS304 침에 준하는 안전성을 확인하였다.

II. 實 驗

1. 재료

pH 시험, 중금속 시험, 자외선흡수스펙트럼 측정, 세포독성 시험 및 용혈성 시험에 사용된 SS304 소재의 침은 임상에서 상용되는 직경 0.25mm, 길이 40mm의 1회용 호침(동방침구제작소, Korea)을 사용하였으며, DSS 소재의 침은 본 기기의 개발과정에서 직경

0.30mm, 길이 30mm로 주문제작(우전침구제작소, Korea)된 침을 사용하였다.

2. 용출액의 제조

1) pH 시험용

식약청 고시인 ‘의료기기의 생물학적 안전에 관한 공통 기준규격’¹¹⁾ 중 세포독성 시험 항목을 바탕으로 용출액을 제조하였다. 용매로 사용된 100ml의 증류수에 각각 15g의 DSS 침과 SS304 침을 넣어 용출시켰다. 용출 시간은 ‘1회용 주사침 고시’¹¹⁾의 내용을 따라서 각각 37℃로 유지된 water bath(Sejong, Korea)에 넣고 60±2분간 용출시켰다.

50℃, 70℃에서도 위와 동일한 방법으로 용출액을 얻었다.

2) 중금속시험용, 자외선흡수스펙트럼용

위의 2-1)과 같은 방법으로 용출액을 제조하였다. 용출 시간은 ‘의료기기의 생물학적 안전성에 관한 공통 기준규격’¹¹⁾을 바탕으로 37℃, 50℃, 70℃에서 각각 72시간, 48시간, 24시간 동안 용출시켰다.

3) 세포독성 시험용(Cytotoxicity)

실험군으로 DSS 침, SS304 침을 사용했고, 양성대조군으로 Cu, 음성대조군으로 304 stainless steel(SS304)을 사용¹²⁾해서 용출액을 제조했다. 용매로는 9g/ml 염화나트륨 수용액을 사용하였고, 농도, 시간 및 온도 조건은 2-2)와 동일하게 하였다.

4) 용혈성 시험용(Hemolysis)

실험군으로 DSS 침, SS304 침을 사용했고, 양성대조군으로 증류수, 음성대조군으로 생리적 식염수를 사용하였다¹³⁾. 용매로 사용된 9g/ml 염화나트륨 수용액 100ml에 각각 15g의 DSS 침과 SS304 침을 넣어 용출시켰다. 식약청의 ‘스텐트 기준 및 시험방법 해설서’에 명시되어 있는 용출조건¹⁰⁾에 의거하여, 70℃로 유지된 water bath에서 24시간 동안 용출시켰다.

3. 용출액의 pH 측정

검액으로는 2-1)에서 제조된 용출액을 사용하였고, 공시험액으로는 증류수를 사용하였다. 검액 및 공시험액 각 20ml에 각각 1g/l 염화칼륨 수용액 1.0ml를 넣고 pH를 측정하였다. pH meter(Model420, Thermo

Orion, USA)를 사용하여 검액 및 공시험액의 pH를 각각 3회씩 측정하였다.

‘1회용 주사침 고시’⁹⁾에서는 이때 검액과 공시험액의 pH 차이가 1.0이하가 되어야 한다고 규정하고 있다.

4. 중금속 측정

SS304 침과 DSS 침의 용출액에 대하여, ‘1회용주사침 고시’ 기준안에서 규정한 대한약전 중금속 시험법 제1법인 비색법과 ‘1회용주사침 고시’ 개정안에서 규정된 원자흡광광도법을 다음과 같이 실시하였다⁹⁾.

1) 비색법

시료로는 2-2)에서 제조된 용출액을 사용하였고, 시료와의 비교를 위한 표준액으로는 증류수를 사용하였다. 50ml 네슬러관에 시료 혹은 표준액을 각각 20ml 담은 후, 여기에 에탄올 100ml에 페놀프탈레인 1g을 넣은 페놀프탈레인 지시약 1방울과 0.36g/ml 초산 수용액 2ml를 넣었다. 표준액에 10ppm의 납 표준액 20ml를 넣은 후, 모든 시료와 표준액에 0.1N 질산을 넣어 50ml로 채웠다. 여기에 황화나트륨 5g을 취하여 물 10ml, 글리세린 30ml를 넣어 만든 황화나트륨 시액을 1-2 방울 넣고 5분간 방치 후, 검액의 색을 비교표준액 및 공시험액의 색과 비교하였다.

2) 원자흡광광도법(ICP-OES)

Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy(ICP-OES) 방법을 이용하여, 2-2)에서 제조된 용출액에 함유된 중금속 농도를 측정하였다. Cu, Fe, Pb, Sn의 함유량을 각각 327.395nm, 238.204nm, 220.353nm, 283.99nm 파장에서 측정하였다.

분석기기는 Vista-Pro(Varian, Australia)를 사용했고, 출력은 1.2W, plasma flow는 15.0 l/min, auxiliary flow는 1.5 l/min, nebulizer flow는 0.7 l/min의 조건으로 분석했다.

5. 자외선흡수스펙트럼

자외가시부흡광도측정법을 사용하여 250nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. ‘스탠트 기준 및 시험방법 해설서’¹⁰⁾에서는 자외선흡수스펙트럼 허용치를 250-350nm에서 최대흡광도의 수치를 0.1AU 이하로 규정하고 있다.

분석기기는 SCINCO 3100(SCINCO, Korea)을 사용

하였고, 검액의 농도는 100ppm, experiment mode는 general mode, set up parameters는 fast mode(integration time 1, gain 1, scan number 25)로 하여 측정하였다.

6. 세포독성 시험(Cytotoxicity)

‘의료기기의 생물학적 안전성에 관한 공통 기준규격’¹¹⁾을 바탕으로, Tetrazolium-based colorimetric(MTT) 검색법을 다음과 같이 실시하였다.

1) 세포주(cell line)

‘의료기기의 생물학적 안전성에 관한 공통 기준규격’¹¹⁾에서 세포독성시험에 권장하는 7개 세포주 중 하나인 CCL81(Vero)를 서울대학교 암연구소 소속의 한국세포주은행에서 분양받아 사용하였다.

2) 세포배양

10% fetal bovine serum(FBS)을 포함한 RPMI1640 media(Sigma, USA)를 이용하여, 5% CO₂, 95% 공기, 37°C 온도가 유지되는 incubator에서 배양하였으며, 2-3일에 한번씩 계대 배양을 시행하였다. 96well plate에 1,000여 개의 cells를 seeding하여 24시간 전 배양하고, 양성대조군으로 쓰이는 Cu, 음성대조군으로 쓰이는 SS304와 SS304 침, DSS 침을 사용하여 용출시킨 용출액을 처리하여 48시간 동안 세포를 배양하였다.

3) 세포독성 측정

48시간 동안 세포활성 시킨 96well plate에 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) 10μl와 media 90μl을 넣고 2시간 동안 37°C incubator에서 배양한 후 DMSO 100μl를 넣고 490nm에서 ELISA reader(E-Max, USA)로 세포활성도를 측정하였다.

7. 용혈성 시험(Hemolysis)

토끼혈을 채혈한 즉시 EDTA를 함유하고 있는 진공채혈관(vacuum tube)에 모은 후, 토끼혈 15ml를 0.9% 염화나트륨주사액 20ml에 희석하였다. DSS 침과 SS304 침 용출액 각 5.0mg이 첨가된 0.9% 염화나트륨 수용액주사액 10ml가 들어있는 바이알과 양성대조군 및 음성대조군 10ml가 든 바이알에 희석된 0.2ml 토끼혈을 각 바이알에 첨가하였다. 모든 바이알을 60

분 동안 37℃ 수조에 방치한 후 5분 동안 500×g에서 원심분리한 후, 각 상층액의 흡광도를 ELISA reader (E=Max, USA)를 이용하여 545nm에서 측정하였다. ‘스텐트 기준 및 시험방법 해설서’¹⁰⁾에서는 검액의 평균 용혈도가 5%이하로 나타나야 한다고 규정하고 있다.

$$\text{백분율용혈도}(\%) = \frac{[(\text{시료흡광도} - \text{음성대조흡광도}) \div (\text{양성대조흡광도} - \text{음성대조흡광도})] \times 100}$$

8. 통계

모든 측정값은 평균±표준편차(mean±standard deviation)로 나타내었으며, 통계분석은 SPSS(Ver. 12.0)를 이용하였다. 통계분석 기법으로 One-way ANOVA (analysis of variance)를 사용하였으며, Post hoc test는 Scheffe 방법을 사용하였다. 유의수준은 0.05 이하로 설정하였다.

Ⅲ. 成 績

DSS 침의 생화학적 안전성을 알아보기 위하여, 1회용 주사침 및 스텐트에 관한 식약청의 의료기기 규정을 바탕으로^{9,10)} DSS 침 용출액에 대하여 pH, 중금속, 자외선흡수스펙트럼, 세포독성 및 용혈성 시험을 실시하고, 상기 규정을 만족하는지 알아보았다. 그리고 DSS 침이 상용되는 SS304 침에 준하는 안전성을 갖고 있는지 알아보기 위하여, DSS 침과 SS304 침의 각 시험 항목별 결과 차이에 대해 유의성을 검정하였다.

1. 용출액의 pH 시험

공시험액의 평균 pH는 5.47±0.03로 측정되었다. ‘1회용주사침 고시’에서 공시험액과의 pH 차이를 1이하로 규정하고 있으며, 이 규정을 따르면 DSS 침 용출액의 pH는 4.47-6.47 범위 안에 들어가지 않는다.

37℃, 50℃, 70℃에서의 DSS 침 용출액의 pH는 모두 공시험액과 1이하로 나타나 음성으로 판정되었다. DSS 침과 SS304 침의 온도별 pH 비교시에도 유의성은 없었다(Table 1, Fig. 1).

2. 중금속 시험

DSS 침과 SS304 침의 용출액에 대하여, ‘1회용주사침 고시’ 기준안에서 규정한 대한약전 중금속 시험법 제1법인 비색법과 ‘1회용주사침 고시’ 개정안에서 규정된 원자흡광광도법을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 비색법

비교표준액은 황갈색빛으로 투명하였으며, 공시험액은 무색투명하였다. 37℃ 용출액의 경우 DSS 침과 SS304 침 모두 무색투명하여 공시험액과 비교하여 차이가 없었고, 비교표준액과는 색깔의 차이가 뚜렷하게 나타났다. 50℃, 70℃ 용출액도 37℃ 용출액처럼 무색투명하여 공시험액과 같았고, 비교표준액과의 색깔 차이를 분명하게 확인할 수 있었다.

‘대한약전 중금속 시험법 제1법’에 따라 비색법을 실시한 결과, 모든 검액에서 비교표준액과의 차이가 확인되어 중금속 시험은 모두 음성으로 판정되었다

Table 1. pH measurement of Acupuncture needles extract (pH)

	Blank	Extraction Temperature(℃)		
		37	50	70
Blank	5.47±0.03			
SS304		5.59±0.07	5.65±0.04	5.86±0.02
DSS		5.72±0.05	5.75±0.02	6.09±0.03

When difference between the real samples and the blank one falls within±pH 1, it is considered to be compliant with the standards for disposable needles of Korea Food and Drug Administration(KFDA). DSS Acupuncture needle extract measured here satisfied such requirement. There was no significant difference between DSS and SS304 Acupuncture needle extract.

Blank : Blank liquid.

SS304 : extract from SS304 Acupuncture needle.

DSS : extract from DSS Acupuncture needle.

Values are expressed as mean±standard deviation.

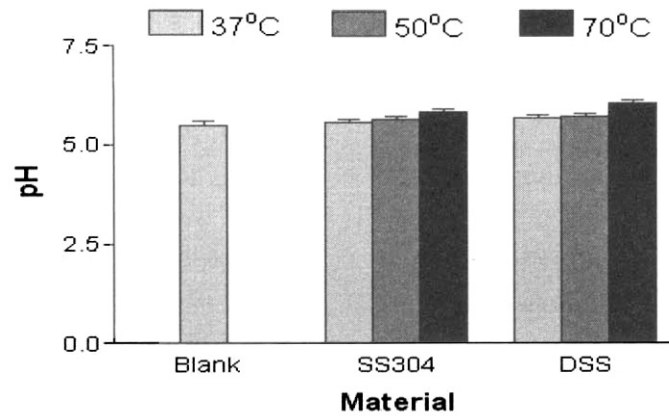


Fig. 1. pH measurement of Acupuncture needles extract

When difference between the real samples and the blank sample falls within \pm pH 1, it is considered to be compliant with the standards for disposable needles of KFDA. DSS Acupuncture needle extract satisfied such requirement. There was no significant difference between DSS and SS304 Acupuncture needle extract.

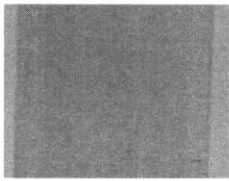
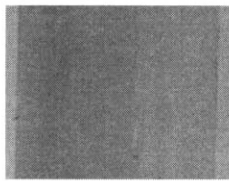
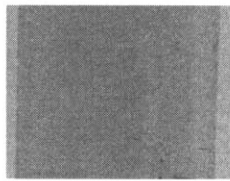
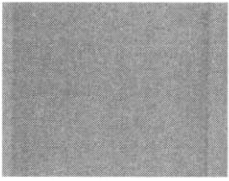
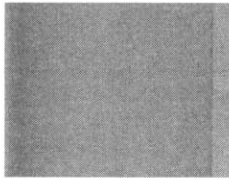
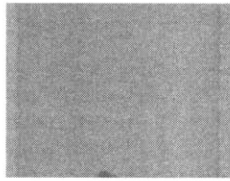
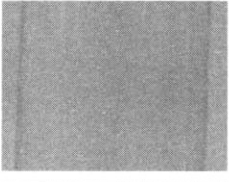
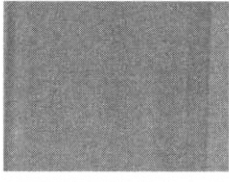
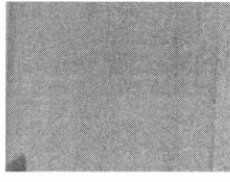
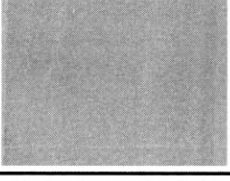
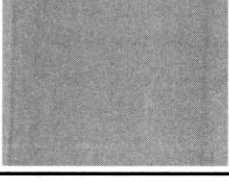
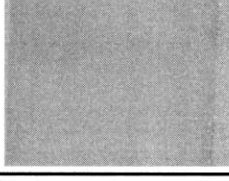
Blank : blank liquid.

SS304 : extract from SS304 Acupuncture needle.

DSS : extract from DSS Acupuncture needle.

Values are expressed as mean \pm standard deviation.

Table 2. Colorimetric comparison results of extracts of Acupuncture needles

	Extraction Temperature(°C)		
	37	50	70
Positive control			
Negative control			
SS304			
DSS			

Positive control, blank solution ; Negative control, standard solution ; SS304, extract from SS304 Acupuncture needles ; DSS, extract from DSS Acupuncture needles.

Positive control was transparent with a tinge of yellowish brown color, while negative control was clear and transparent. DSS was also clear and transparent, distinguishably different from positive control but same as negative control. There was no difference between DSS and SS304 Acupuncture needle extract.

(Table 2).

2) 원자흡광광도법(ICP-OES)

DSS 침과 SS304 침 용출액에 대한 중금속 농도를 Vista-Pro(Varian, Australia)를 사용하여 원자흡광광도법(ICP-OES)으로 측정하였다. 측정 결과 모든 용출액에서 Cu는 검출되지 않았으며, Pb와 Sn은 일부 용출액에서 검출되었으나 기준치인 5ppm보다 훨씬 낮은 수준이었다.

Cu, Fe, Pb, Sn 항목에 대한 검사에서 DSS 침 및 SS304 침의 중금속 수치는 기준치인 5ppm 보다 훨씬

낮게 검출되어 규정을 만족하였다(Table 3).

3. 자외선흡수스펙트럼

DSS 침 용출액에 대하여 자외가시부흡광도측정법을 사용하여 자외선흡수스펙트럼을 알아보았다. SCINCO 3100(SCINCO, Korea)을 사용하여 250nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

37℃, 50℃, 70℃에서 DSS 침 용출액의 흡광도는 각각 0.0139 AU, 0.0071 AU, 0.0103 AU로 측정되었다. DSS 침 용출액은 자외선흡수스펙트럼에서 흡광

Table 3. ICP-OES measurement results for extracts

(ppm)

Material	Extraction Temp.(℃)	Heavy metals			
		Cu 327.395	Fe 238.204	Pb 220.353	Sn 283.998
SS304	37	N. D.	0.0843 ±0.0067	N. D.	0.0099 ±0.0126
	50	N. D.	0.1063 ±0.0027	N. D.	0.0252 ±0.0268
	70	N. D.	0.0690 ±0.0002	N. D.	N. D.
DSS	37	N. D.	0.0725 ±0.0010	0.0005 ±0.0043	0.2415 ±0.0163
	50	N. D.	0.0688 ±0.0005	N. D.	0.0308 ±0.0146
	70	N. D.	0.0715 ±0.0007	N. D.	N. D.

In SS304 Acupuncture needle extract, copper(Cu) and lead(Pb) were not found, whilst iron(Fe) and tin(Sn) were found but within the acceptable range of under 5 ppm. In DSS Acupuncture needle extract, copper(Cu) was not found, lead(Pb), whilst iron(Fe) and tin(Sn) were found but within the acceptable range of under 5 ppm. The concentration under 5 ppm is considered to be compliant with the standards of KFDA.

SS304 : extract from SS304 Acupuncture needle.

DSS : extract from DSS Acupuncture needle.

N. D. : Not detected.

Values are expressed as mean±standard deviation.

Table 4. Absorbance at 250 nm for extract of Acupuncture needles

(AU)

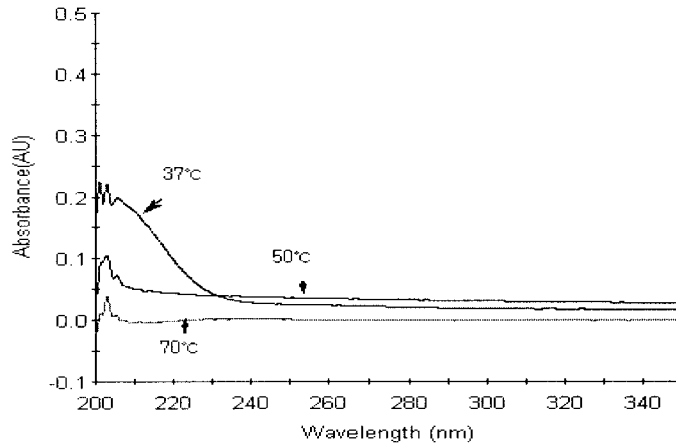
	Extraction Temperature(℃)		
	37	50	70
SS304	0.0258	0.0369	0.0015
DSS	0.0139	0.0071	0.0103

All measurements were below 0.1 AU, satisfying the KFDA standard for a stent.

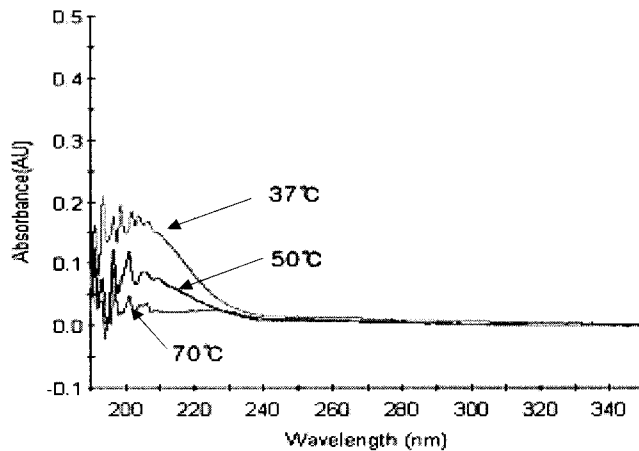
SS304 : extract from SS304 Acupuncture needle.

DSS : extract from DSS Acupuncture needle.

Values are expressed as mean±standard deviation.



(A) Absorbance for extract of SS304 Acupuncture needles.



(B) Absorbance for extract of DSS Acupuncture needles.

Fig. 2. Absorbance versus wavelength curve for extracts of SS304 Acupuncture needle extract(A) and DSS Acupuncture needle extract(B). It should be noted that extractant from each temperature fell below 0.1 AU between 250–350nm. In(A) and(B) measurements were below 0.1 AU, satisfying the KFDA standard for a stent

도가 0.1 AU 이하로 나와야 하는 ‘스텐트 기준 및 시험방법 해설서’의 규정을 모두 만족하였으며, SS304 침과의 비교에서도 안전성을 보였다(Table 4, Fig. 2).

4. 세포독성 시험(Cytotoxicity)

ELISA reader(E-Max, USA)를 이용하여 490nm에서 흡광도를 측정하고, 음성대조군 흡광도를 기준으로 세포 생존율을 계산하여 세포독성을 평가했다. 세포 생존율에서 DSS 침은 양성대조군으로 사용된 Cu에 비해 뚜렷한 생존율 차이를 보였으며($p < 0.001$), 음성대조군 및 SS304 침과의 비교에서는 유의성 있는 세포 생존율 차이가 나타나지 않았다($p > 0.05$)

DSS 침은 세포독성시험에서 음성으로 판정되었으며, 1회용주사침 및 SS304 침에 준하는 안전성을 나타내었다(Table 5, Fig. 3).

5. 용혈성 시험(Hemolysis)

DSS 침과 SS304 침 용출액에 대하여 토끼혈을 이용한 용혈성 시험을 실시하고, ELISA reader(E-Max, USA)로 각각의 검액의 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도를 통해 백분율 용혈도를 계산한 결과, DSS 침, SS304 침 용출액의 백분율 용혈도는 각각 -7.67 ± 0.55 , -15.44 ± 0.66 로 나타났다. ‘스텐트 기준 및 시험방법 해설서’의 용혈성 시험 규정에 따르면 백분율 용혈이 5%

Table 5. The viability of CCL81(Vero) cell treated with different material extracts by MTT assay

	Extraction Temperature		
	37°C	50°C	70°C
Posi-Con	-	-	28.83±11.67
Nega-Con	100.00±6.76	100.00±7.95	100.00±9.66
SS304	108.38±10.30	111.20±9.41	100.18±4.36
DSS	99.21±8.67	84.63±10.84	94.79±6.33

Absorbance was measured at 490nm, and then cell viability was calculated from it. Each group was significantly different compared with Posi-Con(p<0.001). At each temperature, DSS was not significantly different compared with Nega-Con and SS304(p>0.05).

Posi-Con(positive control) : extract from copper.
 Nega-Con(negative control) : extract from SS304.
 SS304 : extract from SS304 Acupuncture needle.
 DSS : extract from DSS Acupuncture needle.
 Values are expressed as mean±standard deviation.

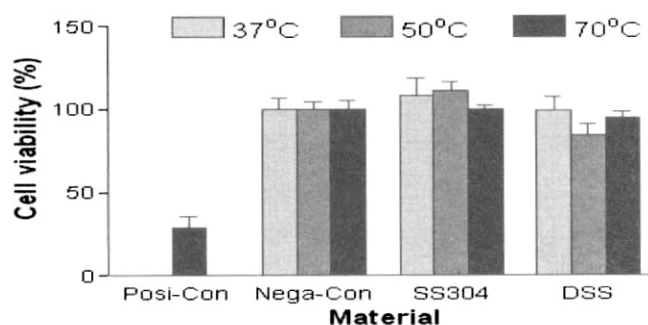


Fig. 3. The viability of CCL81(Vero) cell treated with different material extracts by MTT assay

Absorbance was measured at 490nm, and then cell viability was calculated from it. Each group was significantly different compared with Posi-Con(p<0.001). At each temperature, DSS was not significantly different compared with Nega-Con and SS304(p>0.05).

Posi-Con(positive control) : extract from copper.
 Nega-Con(negative control) : extract from SS304.
 SS304 : extract from SS304 Acupuncture needle.
 DSS : extract from DSS Acupuncture needle.
 Values are expressed as mean±standard deviation.

Table 6. Hemolytic effects of metal extracts on the rabbit blood cells

	Absorbance(AU)	Hemolysis	
		Hemolysis ratio	% hemolysis
Posi-Con	0.465±0.004	100.00±0.90	
Nega-Con	0.147±0.004	31.71±0.81	
SS304	0.098±0.002	21.16±0.45	-15.44±0.66
DSS	0.123±0.002	26.47±0.37	-7.67±0.55

Percentage of hemolysis(%) = $\{(S - N) / (P - E)\} \times 100$.

S represents the absorbance of sample extract, N, the absorbance of Nega-Con, P, the absorbance of Posi-Con, respectively. When hemolysis percentage is under 7%, it is considered to be compliant with the standards for disposable needles of KFDA. DSS Acupuncture needle extract measured here satisfied such requirement.

Posi-Con : distilled water(positive control).
 Nega-Con : 0.9% saline solution(negative control).
 SS304 : extract from SS304 Acupuncture needle.
 DSS : extract from DSS Acupuncture needle.
 Values are expressed as mean±standard deviation.

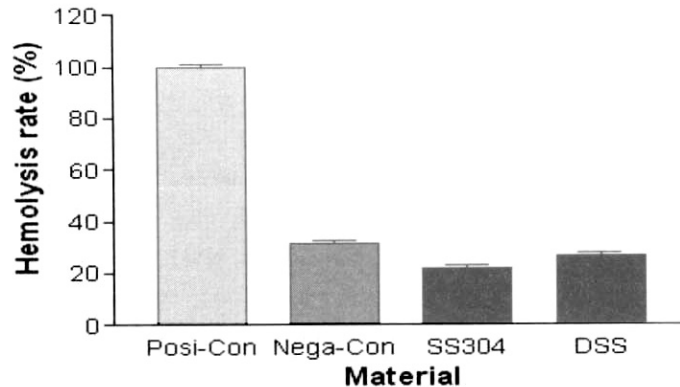


Fig. 4. Hemolytic effects of metal extracts on the rabbit blood cells

Percentage of hemolysis(%) = $\{(S - N) / (P - E)\} \times 100$:

S represents the absorbance of sample extract. N, the absorbance of Nega-Con. P, the absorbance of Posi-Con. When hemolysis percentage is under 7%, it is considered to be compliant with the standards for disposable needles of KFDA. DSS Acupuncture needle extract measured here satisfied such requirement.

Posi-Con : distilled water(positive control).

Nega-Con : 0.9% saline solution(negative control).

SS304 : extract from SS304 Acupuncture needle.

DSS : extract from DSS Acupuncture needle.

Values are expressed as mean±standard deviation.

이하이어야 한다고 규정하고 있으며, DSS 침은 위의 규정을 만족하였다. DSS 침과 SS304 침의 백분율 용혈도가 음의 값을 가진 것은 음성 대조군으로 사용된 식염수보다도 용혈현상이 적게 일어났기 때문으로, DSS 침과 SS304는 용혈현상에 있어 모두 안전한 결과를 보였다(Table 6, Fig. 4).

IV. 考 察

온침은 상한론에 ‘태양병 3일에 이미 발한시킨 후 토법, 하법 혹은 온침의 치법을 사용하여(太陽病三日已發汗 若吐 若下 若溫鍼)¹⁴⁾라고 하여 그 명칭이 문헌적으로 처음 등장하였다. 자침 후 침병에 올려놓은 땀이 탈 때의 연소열을 이용하여 경락에 맺힌 차가운 사기를 제거하고 기혈을 잘 흐르게 하므로, 풍습(風濕)질환이나 한성(寒性)질환 및 허증(虛症)의 만성질환의 치료에 많이 이용되어 왔다^{13,16)}. 아울러 온침이 지닌 정기를 기르고 사기를 쫓는 扶正去邪의 효능^{17,18)}은 면역력 증진과 관련하여 현대 의학적으로 입증되었다^{19,22)}.

지능형온침자극기는 이러한 온침을 보다 편리하고 효율적으로 시술하기 위하여 개발되었다. 전통적 온침 시술이 침병에 올려진 땀의 연소열을 이용하는 것과

는 달리, 지능형온침자극기는 전자기 유도현상을 통해 자성 천이형 발열체로 사용되는 DSS 침에 대한 비접촉 열가열이 가능하다. 따라서 애구를 만들고 꽃아야 하는 번거로움 없이 적정 유효온도를 시술자의 의도에 따라 조절 및 유지할 수 있는 장점이 있다. 또한 연소열을 이용하지 않으므로 연기로 인한 치료실환기 문제를 야기하지 않는다.

한편 지능형온침자극기는 지금까지 침으로 사용되지 않았던 소재를 발열체로 사용한다. 현재 ‘식품의약품안전청의 의료기기 기준규격⁴⁹⁾의 ‘침고시’에서 침의 재료는 KSD 3703 스테인리스강선에 규정된 SS304 또는 SS316 두 물질로 제한하고 있으며, 현재 일반적으로 사용되고 있는 침은 이 규정을 따라 주로 SS304²³⁾를 사용하고 있다. 하지만 SS304가 침소재로 사용되기 이전에는 다른 소재의 침이 인체에 사용되어 왔고, 현재 인체에 삽입 가능한 신소재에 대해 지속적인 연구²⁴⁾가 되고 있음을 비취볼 때, 침의 소재를 반드시 SS304, SS316으로 제한하는 것보다는 이에 준하는 안전성을 지니면서 보다 좋은 침술 치료 효과를 낼 수 있는 신소재에 대한 개발을 고려해 볼 필요가 있다.

DSS와 SS304는 스테인레스강의 금속조직상 차이는 있으나, 화학성분상 같은 Fe-Cr-Ni계 물질이다. 침이나 1회용 주사기에 사용되는 Stainless Steel은 Austenite 계열²⁵⁾인 반면, DSS는 Austenite 계와 Ferrite 계의 혼합계열로 각각의 장점을 취하여 우수한 강도

와 부식에 대해 저항성이 강한 특징이 있다. 따라서 DSS는 SS304 소재와 화학성분상 유사하며, Cr이나 Mo 함유량은 약간 높으나 toxin, allergen으로 알려져 있는 Ni²⁺의 함유량은 더 낮다.

본 연구에서는 1회용 침과 사용 환경이 유사한 1회용 주사침에 대한 규정과 체내 이식으로 영구적으로 사용하는 차이점이 있으나 같은 stainless steel 재료로 구성되어 금속의 위해성²⁷⁾을 판단할 수 있는 스텐트에 관한 규정을 참조하였다. 시험 항목으로는 1회용 주사침 고시에서 규정하고 있는 pH, 중금속, 세포독성 시험을 실행하였고, 스텐트 시험법에서 자외선흡수스펙트럼, 용혈성 시험을 시행하였다. 용출온도 및 시간은 실제 임상에서 활용되는 온침 온도와 각 시험 항목별 식약청의 규정을 바탕으로 설정하였다.

1회용 주사침 고시의 pH 허용치는 공시험액과 대비하여 용출액의 pH가 ±1 이하로 나타나야 한다고 규정되어 있으며, 37°C, 50°C, 70°C 에서의 DSS 침 용출액은 공시험액과 pH 1이하의 차이를 보였다. DSS 침 용출액의 pH는 SS304 침 용출액의 pH보다 모든 온도에서 높게 나왔으나, 통계적 유의성은 없었다. 따라서 용출액의 pH 시험에서 DSS 침은 1회용 주사침의 규정을 만족하며, SS304 침에 준하는 안전성을 나타내었다.

중금속 시험 중 비색법은 납 침전물에 의해 생긴 비교표준액의 색과 검액의 색을 육안으로 비교하는 방법으로, 이를 통해 Hg²⁺, Pb²⁺, Bi³⁺, Cu²⁺, Cd²⁺, As³⁺, Sb³⁺, Sb⁵⁺, Sn⁴⁺, Sn²⁺ 8개 원소에 대하여 검사할 수 있다. DSS 침 검액은 위의 원소들에 대해 음성으로 결과가 나왔으며, SS304 침 검액과도 색상 차이를 보이지 않았다.

원자흡광광도법은 ICP-OES를 이용하여 Cu, Fe, Pb, Sn의 네 가지 원소를 정량적으로 측정하였다. ICP-OES는 10,000K의 높은 온도를 갖는 Argon plasma를 이용하여 액상 시료를 원자화 시키고, 6,000-7,000K의 온도를 갖는 꼬리 불꽃 부분에서 원자 및 이온 방출선을 측정하여 이를 통해 함유된 원소의 질량을 알 수 있다. 1회용 주사침 고시에서 허용치는 각각의 중금속 함유량이 5ppm 이하로 규정되어 있으며, DSS 침 용출액은 각각의 원소에서 모두 규정을 만족하였다. Fe는 스테인레스강의 주요 구성 성분이기 때문에 모든 온도의 DSS 침 및 SS304 침 용출액에서 검출되었다. 그러나 약 0.07ppm 수준으로 기준치인 5ppm과는 큰 차이가 있었다.

자외선흡수스펙트럼 시험에 사용된 자외가시부흡광

도측정법은 분자의 에너지인 회전에너지, 진동에너지, 전자에너지 중 자외선-가시광선대의 에너지인 전자에너지와 관련된다. 각 분자의 화학결합상태 및 기하학적 구조 등의 특징에 따라 흡수되는 빛 에너지의 크기(frequency) 및 세기(intensity)가 다르게 나타나게 되는데, 이를 통해 시료의 농도, 종류, 구조 등을 결정할 수 있다. 보통 파장 200-800nm의 빛이 물질에 의해 흡수되는 정도를 측정하며, 스텐트 시험법에서는 자외선흡수 스펙트럼 허용치를 250-350nm에서 최대흡광도가 0.1 AU이하여야 한다고 규정하고 있다. 250nm는 350nm보다 에너지가 크기 때문에 250nm에서의 측정치가 기준을 통과하면 350nm에서도 이를 만족하게 된다. 따라서 본 연구에서는 흡광도 측정은 250nm에서 실시했으며, 이때의 값들은 모두 기준치인 0.1 AU 이하로 음성의 결과를 보였다. 다른 결과들에 비해 70°C의 SS304 침 용출액이 0.0015 AU로 상대적으로 낮은 값으로 측정된 것은 배경값 자체가 낮게 측정된 것을 볼 때, 실험적 오차로 추측된다.

세포독성시험에서 사용한 MTT 검색법의 원리는 다음과 같다. 대사과정이 온전한 세포는 미토콘드리아의 탈수소 효소작용에 의하여 노란색 수용성 MTT tetrazolium을 자주색을 띄는 비수용성의 MTT formazan으로 환원시키는데, 세포를 유기 용매로 용해시킨 후 떨어져 나온 solubilised formazan reagent를 분광학적인 방법으로 측정하는 것이다. MTT의 환원성은 대사가 활발한 세포에만 일어나므로 세포의 활성도를 측정할 수 있다. 본 세포독성시험에서 DSS 침 용출액은 양성대조군인 Cu 용출액과는 세포 생존율에 있어 뚜렷한 차이를 보였으며, 음성대조군인 SS304 소재나 현재 사용되고 있는 SS304 침 용출액과는 유의한 차이를 보이지 않아 세포독성은 없는 것으로 판정되었다.

37°C에서 실시된 DSS 용출액의 용혈도 평가에서 오²⁸⁾는 DSS 소재의 안전함을 보고하였다. 본 연구에서는 스텐트 시험법 규정에 따라 70°C 단일 온도에서 24시간 용출하여 용혈도를 평가하였다. 규정에서 백분율 용혈도의 허용치는 5% 이하이며, DSS 침의 백분율 용혈도는 -7%로 나타나 규정을 만족하였다. 백분율 용혈도가 음의 값으로 나온 것은 음성대조군보다 낮게 용혈도가 측정되었기 때문이며, DSS침은 규정된 음성대조군보다도 70°C의 용출환경에서 용혈현상에 있어 안전함을 보였다. SS304 침에 비해 DSS 침의 백분율 용혈도가 높게 나왔으나 두 물질 모두 음성대조군보다도 안전한 수준에서의 용혈현상이 나타났

으므로 그 차이에는 의미가 없었다.

DSS 소재의 안전성을 알아보기 위한 이상의 시험에서, DSS는 식약청의 규정을 모두 만족하였다. 또한 SS304 침과도 유의성 있는 차이를 보이지 않아, 현재 상용되는 SS304 침에 준하는 안전성을 확인하였다.

V. 結 論

지능형온침자극기와 DSS 침의 안전성을 평가하기 위한 상기 실험을 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

37°C, 50°C, 70°C에서 용출된 DSS 침 용출액은 pH 시험, 중금속 시험(비색법, 원자흡광광도법), 세포독성 시험에서 식품의약품안전청의 1회용 주사침 기준을 만족하였으며, SS304 침에 준하는 안전성이 확인되었다. 자외선흡수스펙트럼 측정 및 용혈성 시험에서 DSS 침은 식품의약품안전청의 스텐트 기준을 만족하였으며, SS304 침에 준하는 안전성이 확인되었다.

이상의 결과를 통해 DSS 침이 1회용주사침 및 상용되는 SS304 침에 준하는 안전성을 가지고 있음을 확인하였다.

VI. 參考文獻

1. 金泰英. 鍼灸醫學典論. 서울: 漢方弘報社. 1979 : 204.
2. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室. 鍼灸學. 서울 : 集文堂. 1988 ; 382-4, 489-90, 550-1, 1017-20, 1048-9.
3. 최귀만, 엄태식. 침재질이 온침의 온도변화에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1992 ; 9 : 143-51.
4. 박영배, 강성길, 김창환, 고동균, 오환섭, 허웅. 애주의 형태별 연소 특성에 대한 연구 : 연소온도의 유형을 중심으로. 대한한의학회지. 1995 ; 16(1) : 370-8.
5. 방도향, 박영배, 강성길. 애구의 구간별 연소 시간에 관한 실험적 연구. 대한침구학회지. 1995 ; 12(1) : 243-51.
6. 이건휘, 이견목, 황유진. 상용 소형 썩뜸의 열역학적 특성에 대한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2001 ; 18(6) : 171-87.
7. 이견목, 이견휘, 이승훈, 양명복, 고기덕, 서은미, 장종덕, 황병찬. 온도 측정을 통한 상용 썩뜸의 자극 효과에 대한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2002 ; 19(3) : 64-76.
8. 서수연, 조민지, 최성민, 김세경, 유경주, 임사비나, 김영곤. 한방용 온침 소재의 돼지간 내에서의 발열특성 실험. 제28회 대한의용생체공학회 춘계학술대회. 2003 : 227-9.
9. 식품의약품안전청. 의료기기 기준규격 2004-63. 2004 : 1-2.
10. 식품의약품안전청. 스텐트 기준 및 시험방법 해설서 2000-29. 2000 : 20-4.
11. 식품의약품안전청. 의료기기의 생물학적 안전에 관한 공통 기준규격 2004-64. 2004 ; 3-16.
12. International organization for standardization. ISO 10993-12, Biological evaluation of medical devices, part 12-Sample preparation and reference materials. 2002 ; 3-8.
13. American society for testing and materials. Standard practice for assessment of hemolytic properties of materials. 2000.
14. 문준전 외 편저. 傷寒論精解. 서울: 경희대학교출판국. 2000 : 81.
15. 金泰英. 鍼灸醫學典論. 서울 : 漢方弘報社. 1979 : 204.
16. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室. 鍼灸學(下). 서울. 集文堂. 1988 : 1048-50.
17. 謝錫堯, 許曉琳. 灸法. 山西 : 山西人民出版社. 1988 : 1-2.
18. 程寶書 主編. 鍼灸大辭典. 北京 : 北京科學技術出版社. 1988 : 280, 405.
19. 임사비나. 혈위별 온침이 방사선 피폭에 의한 면역기능저하에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1995 ; 15(2) : 191-206.
20. 송윤희. 온침, laser침 및 호침이 한냉자극으로 저하된 생쥐의 면역기능에 미치는 영향. 서울 : 경희대학교대학원 박사학위논문. 1992.
21. 송윤희. 온침이 Methorexate를 투여한 생쥐의 면역기능 저하에 미치는 영향. 서울 : 경희대학교 대학원 석사학위논문. 1989.
22. 주태청. 온침이 한냉자극으로 저하된 생쥐의 면역기능에 미치는 영향. 서울 : 경희대학교대학원 석사학위논문. 1992.
23. 백용현, 정인태, 이상훈, 이재동, 최도영. 침 금속재료에 대한 생체적합성 연구 : 화학적 조성 및 기계적 특성을 중심으로. 대한침구학회지. 2004 ;

- 21(4) : 159-70.
24. Tristan B. Materials for biomedical engineering. Biomedical Materials. 2001.
25. AK Steel Corporation. Product data sheet, 304, 304L stainless steel. 2000.
26. Fisher AA. Contact dermatitis. Philadelphia. 1986 ; 711-2.
27. Issel A. Biocompatibility of stent materials. MURJ. 2004 ; 11 : 33-7.
28. 오현진, 최성민, 박충무, 진경숙, 김영곤, 이용우. Hemolytic evaluation of duplex stainless steel extract on human blood. 한국생체재료학회 포스터. 2004.