

# 백서의 비장에서 화학적 교감신경절제가 뜸(灸)자극으로 유도된 면역변조에 미치는 영향

경희대학교 <sup>1</sup>대학원 동서의학과, <sup>2</sup>의과대학 미생물학교실, <sup>3</sup>한의학대학 생리학교실, <sup>4</sup>의과대학 생리학교실

한재복<sup>1</sup> · 오상덕<sup>1</sup> · 이기석<sup>1</sup> · 최기순<sup>1</sup> · 조영욱<sup>4</sup> · 안현종<sup>2</sup> · 배현수<sup>3</sup> · 민병일<sup>1,4</sup>

## The Effect of Chemical Sympathectomy on Moxibustion-Induced Immunomodulation in the Rat Spleen

Jae-Bok Han<sup>1</sup>, Sang-Duck Oh<sup>1</sup>, Ki-Seok Lee<sup>1</sup>, Ki-Soon Choi<sup>1</sup>, Young-Wuk Cho<sup>4</sup>, Hyun-Jong Ahn<sup>2</sup>, Hyun-Soo Bae<sup>3</sup> and Byung-Il Min<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Department of East-West Medicine, Graduate School, <sup>2</sup>Department of Microbiology, Medical College, <sup>3</sup>Department of Physiology, Oriental Medical College, <sup>4</sup>Department of Physiology, Medical College, Kyung-Hee University, Seoul, Korea

### ABSTRACT

**Background:** To investigate the role of sympathetic nervous system (SNS) in moxibustion-induced immunomodulation, the effects of chemical sympathectomy on moxibustion-induced changes in splenic NK cell cytotoxicity, T and B cell proliferation were studied in Sprague-Dawley male rats. **Methods:** Chemical sympathectomy was achieved with intraperitoneal injection of 6-hydroxydopamine 50 mg/kg/day for 3 successive days. Direct moxibustion (6-minute interval, 9 moxa ball, each of which weighing 0.007 g and burning for 40 seconds) was applied on unilateral anterior tibial muscle region where Zusanli (ST36) acupoint is located, once a day for 7 successive days. NK cell cytotoxicity was measured by 4hr-<sup>51</sup>Cr release assay. Mitogen-induced lymphocyte proliferation was analyzed by [<sup>3</sup>H]-thymidine incorporation assay. **Results:** NK cell cytotoxicity was suppressed by moxibustion, more in sympathectomized rats than in vehicle-treated rats. T cell proliferation induced by concanavalin A was not affected by moxibustion. B cell proliferation induced by lipopolysaccharide showed no significant change in vehicle-treated rats, but an increase in sympathectomized rats by moxibustion. Sympathectomy alone induced augmentation of NK cell cytotoxicity and suppression of T cell proliferation. **Conclusion:** These results suggest that SNS has no direct relation with moxibustion-induced immunomodulation but has an important role in the mechanism to keep the homeostasis of immune system by tonically inhibiting excessive changes of various immune components. (*Immune Network* 2002;2(2):109-114)

**Key Words:** Chemical sympathectomy, 6-hydroxydopamine, moxibustion, NK cell, T-cell, B-cell

### 서 론

신경계와 면역계 사이의 기능적 상호작용 가능성이 제안된 이래, 신경계와 면역계 사이의 상호교신은 시사하

책임저자 : 민병일, 동서의학연구소

☎ 130-702, 서울 동대문구 회기동 1번지 경희의료원  
신한방 9층

Tel: +82-2-958-9092, 961-0286. Fax: +82-2-958-9083

E-mail: mbi@khu.ac.kr

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

부-뇌하수체-부신 축으로부터 분비되는 에피네프린, 코르티솔 등과 같은 체액성 인자의 분비에 의한 것으로 인식되어 왔다. 그러나 최근의 신경면역조절(neuroimmunomodulation)에 대한 연구들에 의하면, 자율신경말단과 면역세포들이 직접 접촉하고 있으며 신경전달물질과 싸이토카인의 매개에 의해 서로 교신하고 있음이 시사되고 있다(1).

침전통기전의 연구를 통하여 경혈자극이 신경계에 다양한 영향을 미치는 것으로 밝혀졌다. 따라서 경혈자극

이 면역계에 미치는 영향도 신경계가 매개할 것이라는 추정을 할 수 있다. 족삼리(ST36)에 대한 진침자극이 비장내의 내인성 베타-엔돌핀, 인터페론-감마(INF- $\gamma$ )를 증가시키며 이와 함께 자연살해세포(NK cell)의 활성을 증가시킨다고 보고되었다(2). 또한 비장내 NK cell은 교감신경활성과 직접적인 관련을 가지며, 교감신경활성은 시상하부와 관련이 있는 것으로 여겨진다(3-9).

뜸(灸)자극을 가한 경우 침자극을 가한 경우보다 자극 부위에 더 많은 면역세포들이 침윤되고 주변 임파절의 무게가 증가하는 것(10)으로 볼 때, 뜸이 침보다 더 강력한 면역변조를 일으킬 것으로 추정할 수 있다. 또한 뜸자극은 피부의 T cell 임파종과 같은 암(11), 접촉성 피부염과 같은 지연형 과민반응(12), 류마티스관절염(13-15), Hashimoto씨 갑상선염(16,17) 그리고 췌양성 대장염(18)과 같은 자가면역질환, 피부선병(scrofula)(19)과 같은 결핵균 감염질환, 유행성 출혈열(20,21)과 같은 바이러스성 질환 등 다양한 면역관련질환에서 치료효과가 보고되었으며 heat-killed *Staphylococcus aureus* vaccination에서 병행할 경우 항체가 더욱 증가됨(22)이 보고되기도 하였다. 그러나, 뜸자극이 어떻게 이처럼 발병기전이나 치료기전이 상이한 다양한 면역관련 질환들에서 치료효과를 나타내는지 그 기전은 아직 확실치 않다.

교감신경계와 면역계의 상호작용은 복잡한 기전들이 얹혀 일어나므로 명확히 밝히기가 어려운 것 같다. 화학적 교감신경절제가 면역계에 미치는 영향에 대한 연구들을 통해서 교감신경계는 임파절, 비장 그리고 골수에서 세포증식을 방해하며, 임파절로의 임파구 이동(23), B cell의 증식 및 분화(24), 비장세포에 의한 IL-2와 IL-4 생산(25) 그리고 대식세포기능(26)을 감소시키는 것으로 나타났다. 또 다른 연구들에서는 교감신경계가 NK cell activity, IL-2 생산(27), 임파구 증식(28), 신장에서 IL-6 표현(29)을 자극하는 역할을 하는 것으로 나타나기도 하였다.

이번 실험의 목적은 뜸자극이 면역계에 미치는 영향의 일부를 파악하고 그 기전에 있어서 교감신경계가 직접적인 관계를 하는지를 알아보기 위한 것으로서 교감신경을 화학적으로 절단한 개체들과 그렇지 않은 개체들에서 뜸자극 유무에 따른 비장내 NK cell 활성, T cell 및 B cell 증식반응의 차이를 비교분석하고자 하였다. 부수적으로는, 뜸자극 없이 교감신경절단만 시행한 개체들과 시행하지 않은 개체들을 비교함으로써 평상시에 교감신경계가 면역계에 미치는 영향의 일면도 파악할 수 있으리라 기대하였다. NK cell은 항체의존적 세포매개성 세포독성(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity)에서 뿐만 아니라 바이러스나 다른 세포내 병원체에 대한 선천 면역(innate immunity)으로서 중요성을 지닌다. 일부 암세포를 사멸시키기도 한다. 따라서 NK cell

활성은 선천 면역과 세포성 면역의 중요한 지표로서 널리 활용되고 있다. 적응 면역(adaptive immunity)이 제대로 기능을 발휘하기 위해서는 적은 수의 항원 특이적 임파구들이 일단은 광범위하게 증식할 수 있어야만 한다. 따라서 항원으로 유도시킨 임파구 증식반응을 분석하는 것은 적응 면역 연구에 있어 중요한 지표로서 광범위하게 이용되고 있다(30). 따라서 이번 실험에서도 이 지표들을 측정하기로 하였다.

비장의 교감신경을 선택적으로 파괴해야 할 경우 수술적 방법을 이용하는 것이 이상적이지만 rat과 같이 작은 동물에서는 수술적 교감신경절제술이 이용되기 힘들다. 작은 ganglion은 쉽게 간파될 수 있으며, 신경 섬유가 미세하여 주변조직과 구분하기가 힘들기 때문이다. 따라서 감각신경, 부교감신경이 같이 손상될 수 있을 뿐만 아니라 혈관손상도 일으키기 쉽다. 비록 성공적이라고 할지라도 수술 자체가 시간을 많이 요함으로 감염될 가능성이 많아 면역 관련 실험에는 더욱 적용하기가 어려울 것으로 생각한다. 6-hydroxydopamine (6-OHDA)은 교감신경계를 선택적으로 파괴하는 물질로서 조직에서 장기간의 catecholamine 결핍을 일으킨다. 신생아기에는 영구적인 교감신경차단을 초래할 수 있으며 성장한 동물에서는 가역적인 교감신경병변을 야기시킨다. 심장, 간장, 비장, 타액선 등에 선택성이 높으며 부신에는 영향을 미치지 않는다(31). 따라서 이번 실험에서 rat의 비장에서 교감신경절제의 효과를 일으키는 데 가장 적합한 방법은 6-OHDA를 이용한 화학적 교감신경절제술로 생각되었다.

## 재료 및 방법

**대상.** 생후 5~6주인 240~260 g무게의 Sprague-Dawley 계 수컷 쥐 40마리를 5마리씩 한 cage에 넣고  $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 실험실 환경에서 물과 고형사료를 자유롭게 섭취하며 지내게 하였다. 네 군으로 나누어 각 군에 10마리씩 배정하였다. 제1, 제2군은 교감신경절제군들로서 제1군(X군)에는 교감신경절제만 시행하고, 제2군(XM군)에는 교감신경절제 후 뜸자극을 가하였다. 제3, 제4군은 대조(sham)군들로서 제3군(S군)에는 sham조작만 가하고, 제4군(SM군)에는 sham조작 후 뜸자극을 가하였다.

**교감신경절제 (sympathectomy).** 6-OHDA (Sigma)을 50 mg/kg/day의 용량으로 3일간 매일 복강내 주사하였다(31). 6-OHDA는 ascorbic acid를 0.1%로 함유한 생리식염수에 용해시켜 주사하였다. Sham조작은 생리식염수만을 같은 방법으로 투여하는 것으로 하였다.

**뜸자극(moxibustion) 및 시료채취(sampling).** 마지막 주사를 하고 3일이 경과한 후부터 7일간 매일 하루에 한 차례씩 holder에 가둔 상태에서 찔알만한 크기의 0.007 g 정도인 애구 자극을 9회 시행하였다. 자극부위는 우측

하지의 전경골근의 상부에 위치한 인체의 족삼리에 해당하는 부분을 골도분춘법에 준하여 취혈하였으며 면도 후 애구를 피부에 직접 부착시킨 뒤 향불로 발화시켜 연소시켰다. 애구 하나가 완전 연소되는 데 걸리는 시간(duration)은  $40 \pm 5$ 초였으며, 뜸자극들 사이의 간격(interval)은 5~7분으로 9회 자극 전체에 걸리는 시간은 50~70분이었다. X군과 S군은 같은 시간 동안 holder에 가두어 놓기만 하고 뜸자극은 가하지 않았다. 자극은 모두 오후 8시부터 10시 사이에 행해졌으며, 마지막 자극을 가한 다음 약 12시간이 경과한 다음날 오전 9시부터 11시 사이에 경추탈골시켜 sacrifice시킨 다음 심장천자하여 혈액을 채취하고, 개봉하여 비장을 적출하였다.

**백서의 비장으로부터 단일세포 분리.** 멸균된 3 ml 주사기 뒷부분을 이용하여 비장을 세분 절편한 다음 세포를 Ficoll-hypaque ( $d=1.077$ )에 옮겨 1,400 rpm에서 30분간 원심 분리하였다. 중간층의 mononuclear cell을 확보하여 Hank's balanced salt solution (HBSS)로 3회 세척한 다음 Trypan blue 염색약으로 세포를 희석하여 세포 수를 측정 후 RPMI-1640 배지로  $5 \times 10^6$  cells/ml의 농도로 고정하여 사용하였다.

**NK 세포활성 측정(NK cell cytotoxicity).** 4시간  $^{51}\text{Cr}$  유티법을 이용하였다. 작동 세포는 준비된 백서의 비장 세포를 사용하였다. 표적세포로는 murine leukemia cell line인 YAC-1을 사용하였으며, 방사선 동위원소인  $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ 를 200  $\mu\text{Ci}$ 를 가하여 37°C, 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 50분간 배양한 다음, 1500 rpm에서 5분간 원심 분리한 후 HBSS로 3회 반복 세척하여  $5 \times 10^4$  cells/ml로 농도를 고정하였다. 이미 준비해 놓은 작동세포와  $^{51}\text{Cr}$ 으로 표지된 표적세포를 100 : 1, 30 : 1 그리고 10 : 1의 비율이 되도록 96 well U-bottomed microplate (Corning, New York, USA)에 넣고 37°C, 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 4시간 동안 배양하였다. 4시간 후 2,200 rpm에서 5분간 원심 분리하고 상층액을 0.1 ml씩 취해 g-counter로 상층액에 유리된  $^{51}\text{Cr}$ 에 의한  $\gamma$ 선의 강도(counts per minute; cpm)를 측정하여 다음의 공식으로 % 세포 독성(cytotoxicity)을 산출하였다: % cytotoxicity =  $\{[\text{experimental release (cpm)} - \text{spontaneous release (cpm)}] / [\text{total release (cpm)} - \text{spontaneous release (cpm)}]\} \times 100$ . 세포독성은 비선형방정식을 이용하여 lytic unit (LU)10으로 정량화하였다. 1 LU10은 표적세포의 10%를 용해시키기 위해 필요한 작동세포의 수로 정의되며, total LU10은 lytic curve의 점근선(asymptote)이 표적세포 100% lysis에 해당한다고 가정할 때, 작동세포  $10^6$ 개에 해당하는 1 LU10의 배수로 계산된다. 한 시료에 대해 둘로 나누어 측정하였다.

**T, B 세포 증식반응 측정(T cell, B cell proliferation).** Mitogen-induced proliferative response를  $^3\text{H}$ -thymidine incorporation assay를 이용하여 측정하였다. 비장세포를 5

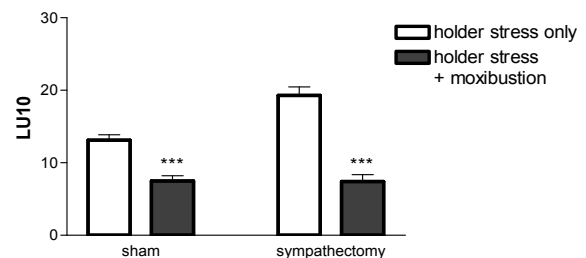
% fetal calf serum을 함유한 RPMI-1640에 부유시킨 후 lipopolysaccharide (LPS) (5 그리고 10  $\mu\text{g/ml}$ ), 혹은 concanavalin A (Con A) (2.5 그리고 5  $\mu\text{g/ml}$ )를 첨가하여 96-well microtiter plates (Corning, New York, USA)에 넣고 37°C, humidified 5%  $\text{CO}_2/95\%$  air incubator 내에서 배양하였다. 3일 뒤  $^3\text{H}$ -thymidine (NEN, Boston, MA)을 1  $\mu\text{Ci/well}$ 로 처리한 다음 다시 4시간 동안 배양한 후 multiple sample harvester를 이용하여 glass fiber filters로 옮기고 Liquid scintillation counter로 측정하였다. 서로 다른 두 농도의 mitogen 환경에서 다시 둘로 나누어 배양 후 측정하고 각 농도하의 두 배양액의 평균치 중 높은 값을 취하였다.

**Epinephrine, Norepinephrine 측정.** 6-OHDA에 의한 sympathectomy의 효과를 검증하기 위하여 말초혈중의 catecholamine을 RIA kit (제조원 IBL, Kat Combi RIA Kit<sup>®</sup>)를 이용하여 측정하였다. 6-OHDA를 주사한 쥐에서 saline만 주사한 쥐에 비해 epinephrine은 89.0%, norepinephrine은 90.1% 감소함을 확인하였다.

**통계처리.** 뜸자극을 가하지 않은 군과 가한 군 사이의 비교 혹은 교감신경절제를 시행한 군과 시행하지 않은 군의 비교와 같은 한 가지 변수가 서로 다른 두 군 사이의 비교는 t-test를 이용하였다. 교감신경절제의 뜸자극 효과에 대한 영향은 two-way ANOVA를 이용하여 분석하였다. 그림들에서 보인 data들은 mean  $\pm$  standard error of mean 값들이며 \*는  $p < 0.05$ , \*\*는  $p < 0.005$ , 그리고 \*\*\*는  $p < 0.0005$ 를 뜻한다.

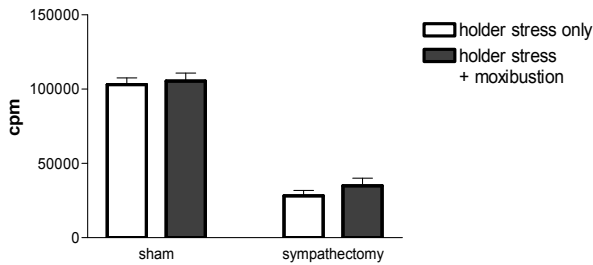
## 결 과

교감신경절제를 시행하지 않은 쥐들과 시행한 쥐들 모두에서 뜸자극을 가할 경우 NK cell cytotoxicity가 감소(각각 43%, 57% 감소)하였으며, 교감신경이 절제된 쥐들에서 더욱 크게 감소하였다(Figure 1). T cell proliferation



**Figure 1.** NK cell cytotoxicity. NK cell cytotoxicity was suppressed by moxibustion in both vehicle-treated rats and sympathectomized rats ( $p < 0.0005$  in t-test). And it was suppressed more in sympathectomized rats than in vehicle-treated rats ( $p < 0.005$  in two-way ANOVA). Sympathectomy alone increased NK cell cytotoxicity ( $p < 0.05$  in t-test).

은 교감신경절제와 상관없이 뜸자극으로 인한 유의한



**Figure 2.** T cell proliferation induced by Con A. There was no significant difference of T cell proliferation between moxibustion group and non-moxibustion group in sympathectomized rats and vehicle-treated rats. But, sympathectomy itself suppressed T cell proliferation ( $p < 0.0005$  in t-test).

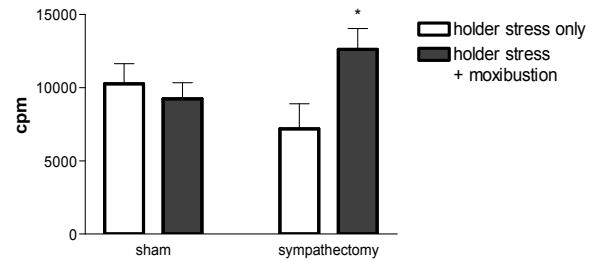
차이를 보이지 않았다(Figure 2). B cell proliferation의 경우, 교감신경절제를 시행하지 않은 군들에서는 뜬자극으로 인한 유의한 차이가 없었으나(10% 감소) 교감신경이 절제된 군들에서는 증가(75% 증가)되었다(Figure 3). Sham군(S군)에 비해 교감신경절제군(X군)에서 NK cell cytotoxicity는 높고(Figure 1), T cell proliferation은 낮은 것으로 나타났으며(Figure 2) B cell proliferation은 유의성은 없으나 낮은 경향성을 보였다(Figure 3).

## 고 찰

비록 사람에서 직접구 자극 후 2시간째에 말초의 NK cell percentage가 감소되었다는 보고가 최근에 있었으나(32), 세포의 수와 기능은 별개의 척도이고 류마티스양 관절염 환자들에서 IL-2와 NK cell activity가 온침자극에 의해 증가된다고 하였으며(13), 족삼리의 전침자극이 NK cell activity를 증가시킨다(2)고 하였으므로 족삼리 뜬자극에 의해서도 NK cell cytotoxicity가 증가될 것으로 기대하였다. 그러나 실험결과는 그와 반대로, 뜬자극에 의해 NK cell cytotoxicity가 감소되는 것으로 나타났다. 이는 이번 실험의 뜬자극 조건이 강한 스트레스 내지는 화상에서와 비슷한 양상의 면역변조를 일으킨 것으로 판단되게 하였다.

면역반응(특히 NK cell)은 가벼운 육체적 스트레스 후에는 증강되지만, 지속적인 강한 스트레스 이후에는 억제된다고 하였다(33). 화상환자에서 화상 정도에 비례해서 사망할 확률이 높아지는 주된 원인은 패혈증이며, 패혈증이 잘 생기는 원인은 NK cell activity의 저하라는 사실이 오래 전부터 알려져 있다(34). 최근, 화상을 입을 경우 splenic T-cell에서 IL-4와 IL-10 (type 2 cytokine)은 생산되나 IL-2와 INF- $\gamma$  (type 1 cytokine)은 생산되지 않아 비장 임파구들에서는 type 2 T cell response가 우세해지는 것으로 보고되었다(35).

이번 실험에서는 뜬자극이 NK cell cytotoxicity의 저하



**Figure 3.** B cell proliferation induced by LPS. There was no significant change of B cell proliferation by moxibustion in vehicle-treated rats, but it was increased by moxibustion in sympathectomized rats ( $p < 0.05$  in t-test). The change in vehicle-treated rats and the change in sympathectomized rats were significantly different ( $p < 0.05$  in two-way ANOVA). Sympathectomy alone shows no significant effect on B cell proliferation.

를 유도하는 것으로 나타나 뜬자극이 자극조건에 따라서는 type 2 T cell response로의 shift를 유도할 수도 있는 가능성을 확인한 바, 이것이 류마티스양 관절염(13-15), Hashimoto씨 갑상선염(16,17) 그리고 췌양성 대장염(18)과 같은 자가면역질환이나 접촉성피부염과 같은 지연형 과민반응(12)의 치료기전으로 작용할 수 있을 것으로 추측된다. 그러나 피부선병(scrofula)(19)과 같은 결핵균 감염질환, 유행성 출혈열(20,21)과 같은 바이러스 감염질환에 대한 치료효과도 있는 것으로 보고되었으므로, 자극조건에 따라서는 반대되는 작용(Th2→Th1 switch)을 할 수 있을 가능성도 배제할 수 없다. 따라서 여러 가지 자극조건에 따른 면역반응의 차이에 대한 비교연구가 뒤따라야 할 것으로 기대된다.

이번 실험이 계획될 때는, 뜬자극에 의한 신호가 교감신경을 통해서 비장으로 전달되는 것으로 가정하여, 교감신경을 절제할 경우 뜬자극이 비장세포들에 미치는 영향이 감소될 것으로 기대되었다. 그러나 실험 결과, 교감신경을 절제할 경우 뜬자극으로 인한 NK cell cytotoxicity의 저하가 오히려 더욱 커지며 B cell proliferation은 증가되는 것으로 나타났다. 뇌실내에 lipopolysaccharide를 주입할 경우 말초에서 IL-1 $\beta$ , IL-6가 증가되는데, 6-OHDA로 화학적 교감신경절제를 할 경우 이 같은 반응이 더욱 증가했다는 보고가 있었다. 이는 교감신경계가 이들 inflammatory cytokine들에 대해 tonic inhibitory control을 하고 있음을 암시하는 것이었다(36). 이와 유사하게, 이번 실험의 결과도 교감신경계가 뜬자극으로 유도되는 NK cell cytotoxicity의 저하와, B cell proliferation의 향진을 억제하고 있음을 시사한다.

뜬자극 없이 교감신경절제만을 시행한 효과는 NK cell cytotoxicity의 증가, T cell proliferation의 감소로 나타났으며, B cell proliferation은 유의성은 없었으나 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 앞선 다른 연구자들의

보고를 통해 예측된 바와 같다(37,38). 이는 평상시에 교감신경이 NK cell cytotoxicity가 증가되거나 T cell, B cell proliferation반응이 저하되는 것을 억제하고 있다는 것을 암시한다.

결론적으로, 뜸자극은 NK cell cytotoxicity의 저하를 유도할 수 있으며, 이러한 효과는 교감신경절제에 의해 더욱 커짐을 알 수 있었다. 이는 교감신경계가 뜸자극의 생체내 신호를 면역계로 전달하는 역할을 한다기보다는 뜸자극으로 유도되는 NK cell cytotoxicity의 저하를 억제하는 데 중요한 역할을 담당하고 있음을 암시하는 것이다. 또한 교감신경절제만 시행한 경우 NK cell cytotoxicity가 증가하는 것으로 볼 때, 평상 시 교감신경계는 NK cell cytotoxicity가 증가되는 것을 억제하고 있었음을 알 수 있다. 이들을 종합해 볼 때, 교감신경계는 상황에 따라 NK cell cytotoxicity가 어느 정도 이상으로 항진되거나 혹은 저하되는 것을 억제함으로써 언제나 일정 범위에서 항상성을 유지할 수 있도록 조절해 주는 작용을 하는 것으로 판단된다. 이는 T cell, B cell proliferation반응에 대해서도 마찬가지이다.

앞으로, 뜸자극의 자극 조건의 변화에 따른 면역반응의 차이에 관한 연구와 특정한 질병 모델을 이용한 보다 상세한 치료기전 연구 등이 뒤따라야 할 것으로 기대된다.

## 참 고 문 헌

1. Straub RH, Westermann J, Schlmerich J, Falk W: Dialogue between the CNS and the immune system in lymphoid organ. *Immunol Today* 19;409-413, 1998
2. Yu Y, Kasahara T, Sato T, Asano K, Yu GD, Fang JQ, Guo SY, Sahara M, Hisamitsu T: Role of endogenous interferon- $\gamma$  on the enhancement of splenic NK cell activity by electroacupuncture stimulation in mice. *J Neuroimmunol* 90;176-186, 1998
3. Irwin M, Hauger RL, Jones L, Provencio M, Britton KT: Sympathetic nervous system mediates central corticotropin-releasing factor induced suppression of natural killer cytotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 255;101-107, 1990
4. Irwin M, Vale W, Rivier C: Central corticotropin-releasing factor mediates the suppressive effect of stress on natural killer cytotoxicity. *Endocrinology* 126;2837-2844, 1990
5. Katafuchi T, Okada E, Take S, Hori T: The biphasic changes in splenic natural killer cell activity following ventromedial hypothalamic lesions in rat. *Brain Res* 652;164-168, 1994
6. Take S, Hori T, Katafuchi T, Hori T: Central interferon- $\alpha$  inhibits natural killer cytotoxicity through sympathetic innervation. *Am J Physiol* 265;R453-R459, 1993
7. Hori T, Katafuchi T, Take S, Shimizu N: Neuroimmunomodulatory Actions of Hypothalamic Interferon- $\alpha$ . *Neuroimmunomodulation* 5;172-177, 1998
8. Katafuchi T, Take S, Hori T: Roles of sympathetic nervous system in the suppression of cytotoxicity of splenic natural killer cells in the rat. *J Physiol* 465;343-357, 1993
9. Katafuchi T, Ichijo T, Take S, Hori T: Hypothalamic modulation of splenic natural killer cell activity in rats. *J Physiol* 471;209-221, 1993
10. Kimura M, Mastrogianni F, Toda S, Kuroiwa K, Tohya K, Sugata R, Ohnishi M: An electron microscopic study of the acupuncture or moxibustion stimulated regional skin and lymph node in experimental animals. *Am J Chin Med* 16;159-167, 1988
11. Hashiro M, Fujio Y, Tanimoto T, Okumura M: Regression of two lesions of cutaneous T-cell lymphoma after moxibustion. *Eur J Dermatol* 4;117-120, 1994
12. Tohya K, Mastrogianni F, Sugata R, Ohnishi M, Kuroiwa K, Toda S, Kimura M, Kawamata J: Suppression of DTH reaction in mice by means of moxibustion at electro-permeable points. *Am J Chin Med* 17;139-144, 1989
13. 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 Tradit Chin Med* 13;174-178, 1993
14. 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
15. 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
16. Hu G, Chen H, Hou Y, He J, Cheng Z, Wang R: A study on the clinical effect and immunological mechanism in the treatment of Hashimoto's thyroiditis by moxibustion. *J Tradit Chin Med* 13;14-18, 1993
17. Hu GS, Chen HP, Hou YJ: Effect of Moxibustion on the antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity activity in peripheral blood of patients with Hashimoto's thyroiditis. *Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 11;403-404,388, 1991
18. Wu H, Chen H, Hua X, Shi Z, Zhang L, Chen J: Clinical therapeutic effect of drug-separated moxibustion on chronic diarrhea and its immunologic mechanisms. *J Tradit Chin Med* 17;253-258, 1997
19. Hong SY, Wang XL: Clinical effects and immune regulation of musk-moxa-string therapy in 39 patients with scrofula. *Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 11;465-467,451-452, 1991
20. Tang Z, Song X, Liu B, Zhou M, Dong C, Ni D: Experimental research on moxibustion treating infected EHFV rat. *Zhen Ci Yan Jiu* 15;302-305, 1990
21. Tang Z, Song X, Zhou M, Zhang J, Dong C, Ni D: Influence of moxibustion on TXA2 and PGI2 in plasma of rat infected epidemic hemorrhagic fever virus. *Zhen Ci Yan Jiu* 17;45-47,44, 1992
22. Yamashita H, Ichiman Y, Takahashi M, Nishijo K: Effect of moxibustion on the enhancement of serum antibody in rabbit against *Staphylococcus aureus*. *Am J Chin Med* 26;29-37, 1998
23. Madden KS, Felten SY, Felten DL, Hardy CA, Livnat S: Sympathetic nervous system modulation of the immune system. II. Induction of lymphocyte proliferation and differentiation in vivo by chemical sympathectomy. *J Neuroimmunol* 49;67-75, 1994
24. Madden KS, Moynihan JA, Brenner GJ, Felten SY, Felten DL, Livnat S: Sympathetic nervous system modulation of the immune system. III. Alteration in T and B cell proliferation and differentiation in vitro following chemical sympathectomy. *J Neuroimmunol* 49;77-87, 1994

25. Kruszezwska B, Felten SY, Moynihan JA: Alterations in cytokine and antibody production following chemical sympathectomy in two strains of mice. *J Immunol* 155;4613-4620, 1995
  26. Chelmicka-Schorr E, Kwasniewski MN, Czlonkowska A: Sympathetic nervous system modulates macrophage function. *Int J Immunopharmacol* 14;841-846, 1992
  27. Sudnar SK, Kilts C, Ritchie JC, Weiss JM: Brain IL-1-induced immunosuppression occurs through activation of both pituitary-adrenal axis and sympathetic nervous system. *J Neurosci* 10;3701-3706, 1990
  28. Saito M, Akiyoshi M, Shimizu Y: Possible role of the sympathetic nervous system in responses to interleukin-1. *Brain Res Bull* 27;305-308, 1991
  29. Nakamura A, Kohsaka T, Johns EJ: Differential regulation of interleukin-6 production in the kidney by the renal sympathetic nerves in normal and spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 11;491-497, 1993
  30. Janeway CA Jr., Travers P, Walport M, Capra JD: Austin P, Lawrence E eds.: *Immunobiology: the immune system in health and disease*, 4<sup>th</sup> edition, p607, p59, U.S.A., Current Biology Publications, 1999
  31. Picklo MJ: Methods of sympathetic degeneration and alteration. *J Auton Nerv Syst* 62;111-125, 1997
  32. Yamashita H, Ichman Y, Tanno Y: Changes in peripheral lymphocyte subpopulations after direct moxibustion. *Am J Chin Med* 29;227-235, 2001
  33. Pedersen BK, Kappel M, Klokke M, Nielsen HB, Secher NH: The immune system during exposure to extreme physiologic conditions. *Int J Sports Med* 15; S116-S121, 1994
  34. Stein MD, Gamble DN, Klimpel KD, Herndon DN, Klimpel GR: Natural killer cell defects resulting from thermal injury. *Cell Immunol* 86;551-556, 1984
  35. Kobayashi H, Kobayashi M, Herndon DN, Pollard RB, Suzuki F: Susceptibility of thermally injured mice to cytomegalovirus infection. *Burns* 27;675-680, 2001
  36. De Luigi A, Terreni L, Sironi M, De Simoni MG: The sympathetic nervous system tonically inhibits peripheral interleukin-1b and interleukin-6 induction by central lipopolysaccharide. *Neuroscience* 83;1245-1250, 1998
  37. Chrousos GP: Stress, chronic inflammation, and emotional and physical well-being: concurrent effects and chronic sequelae. *J Allergy Clin Immunol* 106;S275-S291, 2000
  38. Leo NA, Bonneau RH: Mechanisms underlying chemical sympathectomy-induced suppression of herpes simplex virus-specific cytotoxic T lymphocyte activation and function. *J Neuroimmunol* 110;45-56, 2000
-