

## 침의 자극이 흰쥐 피부의 화상치유과정에서 섬유결합소와 아교질, 라미닌의 발현에 미치는 영향

장호준, 우봉식<sup>1</sup>, 신채수<sup>1</sup>, 서윤경<sup>1</sup>, 백두진<sup>1</sup>, 김남수<sup>2</sup>

한신의원, <sup>1</sup>한양대학교 의과대학 해부학·세포생물학교실, <sup>2</sup>남수침술원

**간추림** : 침의 자극이 화상 치유에 어떠한 영향을 주는지 알아보기 위하여 침자극후 화상 치유과정에서 나타나는 섬유결합소와 아교질, 라미닌의 발현을 정상치유과정과 비교관찰하였다.

실험동물은 체중 250~300g 내외의 흰쥐를 사용하였다. 아무런 조치도 취하지 않은 정상대조군을 C, 시침만 한 군을 Ca로 표기하였고, 실험군은 화상만 입힌 B군, 화상을 입힌 뒤 시침한 Ba군으로 나누었다. 흰쥐의 허리 부위에 특수 제작된 인두를 이용하여 15~18초 가량 열을 가하여, 가로 15mm, 세로 25mm 크기의 화상을 입혔다. 화상을 입힌 후 0.25mm×50mm 침을 이용하여 간격 5~7mm, 깊이 1cm로 시침하였다. Ca군은 20분간 1회, Ba군은 12시간마다 20분씩 총 3회 시침하였고, 화상후 1일과 3일, 7일, 15일, 20일에 실험동물을 희생시켜 화상부위의 피부조직을 적출하였다. 시간경과에 따라 나타나는 섬유의 형성정도를 관찰하기 위하여 azan 염색을 시행하였고, 섬유결합소, 제I형 아교질, 제IV형 아교질과 라미닌의 발현 정도를 알아보기 위하여 면역조직화학염색을 시행하였다.

1. 1일째 B군과 Ba군 모두 표피와 진피, 피부밑조직에는 섬유가 거의 관찰되지 않았으나, B군의 근육과 근육밑 결합조직은 정도(+)로, Ba군은 중등도(++)로 관찰되었다.  
20일째 Ba군의 섬유분포 양상은 대조군과 비슷하였으며, B군은 Ba군보다 염색되는 섬유가 많았다.
2. 화상 3일째에 Ba군의 근육에서 섬유결합소가 먼저 관찰되었고, 15일과 20일에 표피와 진피에서 관찰된 섬유결합소는 Ba군이 B군보다 더 증가되었다.
3. 제I형 아교질은 1일, 3일, 7일에 B군과 Ba군의 근육밑결합조직에서 관찰되었고, 15일에는 Ba군에서만 관찰되었다. 표피에서는 Ba군의 경우, 3일에 나타나서 20일까지 관찰되었으나, B군에서는 20일에 관찰되었다.
4. 제IV형 아교질의 변화는 B군과 Ba군에서 비슷하게 관찰되었다.
5. 라미닌의 발현은 7일군을 제외한 다른 실험군에서는 두 군에 큰 차이가 없었다. 그러나 15일 이후 표피에서 Ba군은 중등도의 양성반응으로, B군은 정도의 양성반응으로 관찰되었다.  
이상의 결과를 종합하면, 침의 자극은 제한적이지만 화상 초기에 섬유결합소, 제I형 아교질 생성을 증진시킴으로 화상치유를 촉진시키는 것으로 생각되었다.

**찾아보기 낱말** : 침, 흰쥐, 화상, 피부, 세포밖바탕질 단백질

### 서론

화상은 외과 영역에서 중요한 치료 대상이다. 특

히 중증 화상은 장기간의 치료를 요하게 되는 경우가 많고, 치료기술의 향상에도 불구하고 사망률이 높고 신체적 기능 장애와 변형을 동반하는 경우가 많다. 이런 화상 치료의 전신적 요법으로는 호흡계통의 유지, 수액요법, 진정제 투여, 항생제 투여, 과상풍 예방 접종, 가피절개술 및 근막절개술,

\*이 연구는 정통침뜸연구소(이사장: 김남수)의 지원으로 이루어졌음.

교신저자: 백두진(한양대학교 의과대학 해부학·세포생물학교실)

위감압술 등이 있으며, 국소적 요법으로는 피사조직의 제거와 국소화학요법 등이 근간을 이루고 있으나(김 1982), 아직까지 화상의 치료는 시간도 많이 걸리고 비용도 많이 드는 것이 사실이다.

한편 닉슨의 중국 방문을 계기로 침술이 서양에 알려진 뒤로 침술을 보다 광범위하게 환자 치유에 이용하게 되었으며, 세계보건기구에서는 100여개의 질병에 대해 치료효과가 있다고 공인하였다. 침술로 환자의 창상과 동통을 치유하려는 많은 시도가 있으며(Papantonio 1988), 그 외 침과 유사한 자극이 쾌양이나 일상적인 치료에 반응하지 않는 상처의 치유, 화상 환자들의 화상 치료후 동통을 감소시키는 데 효과가 있었다는 보고들도 있다(Lewis 등 1990, Sumano와 Mateos 1999). 김(1992)이 화상 치료에 침을 이용하여 효과를 보았다고 발표한 이래로 여러 사람들이 침술을 임상에 적용하고 있다.

이에 본 연구자들은 침의 자극이 화상 치유과정에서 나타나는 섬유결합소, 제I형 아교질, 제IV형 아교질과 라미닌 등의 발현에 어떤 영향을 주는지 알아보기 위하여 본 실험을 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

실험동물은 13주령된 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 사용하였고, 먹이와 물은 제한없이 공급하였다.

대조군은 아무런 조치도 취하지 않은 정상대조군 C와 시침만을 1회 시행한 시침대조군 Ca로 나누었고, 실험군은 화상을 입힌 B군과 화상 후 시침한 Ba군으로 나누었다.

화상 유발은 흰쥐 허리부위의 털을 제거한 뒤 알코올로 소독하고, 끝에 구리로 된 가열 장치가 장착된 인두를 이용하여 15~18초 가량 열을 가하여, 가로 15 mm, 세로 25 mm 크기의 화상을 입혔다. 시침은 동방침구제작소에서 제작한 0.25 mm × 20 mm의 침을 이용하여 간격 5~7 mm, 깊이 5 mm로, 화상을 입힌 부위와 화상부 주위의 5 mm까지의 피부

에 시침하였다. Ca군은 20분간 1회 시침하였고, Ba군은 아침 9시, 저녁 9시, 익일 아침 9시에 20분씩 총 3회 시침하였다.

화상 후 1일, 3일, 7일, 15일과 20일에 실험동물을 희생시켜 화상부위의 피부조직을 절취하여, 4% paraformaldehyde-0.1% glutaraldehyde 혼합용액(pH 7.4)에 고정시킨 후 6 μm의 파라핀절편을 만들었다.

### 2. 염색

조직에서 형성되는 섬유성분의 양을 알아보기 위하여 통상적인 방법으로 azan(Az) 염색을 시행하였다. 섬유결합소와 제I형 아교질, 제IV형 아교질, 라미닌의 발현 정도를 알아보기 위하여 파라핀절편을 탈파라핀 및 함유과정을 거친 후 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액에 5분간 반응시켰다. Phosphate buffered saline(PBS) 용액으로 세척한 뒤 0.4% pepsin 용액으로 37°C에서 40분간 적용하였다. 일차항체는 fibronectin(Sigma Co., USA)을 1:200, laminin(Sigma)을 1:30, type I collagen(Sigma)을 1:100, type IV collagen(Chemicon, USA)을 1:100으로 희석하여 37°C에서 90분간 반응시켰으며 PBS로 세척하고 각각의 일차항체에 맞는 이차항체 biotinylated goat anti-rabbit IgG, biotinylated horse anti-mouse IgG(Vector Lab., USA)를 실온에서 40분간 반응시킨 뒤, ABC(avidin-biotin complex, Vector) 반응액으로 30분간 반응시켰다. 발색은 DAB 염색시료(Vector)를 이용하였으며, 1% methyl green으로 대조염색 후 탈수 및 청명 후 봉입하고 광학현미경으로 관찰하였다. 일차항체를 제외한 반응액으로 음성대조군의 염색을 시행하여 면역조직화학염색의 특이성을 확인하였다. 화상부위와 화상주변부를 관찰하였으며, 염색이 균일하게 잘 된 부위를 기준으로 하여 음성반응(-), 경미한 염색상을 보인 경우 미약한 양성반응(±), 약한 염색상을 보인 경우 경도의 양성반응(+), 중등도의 염색상을 보인 경우 중등도의 양성반응(++), 강한 염색상을 보인 경우 강한 양성반응(+++)으로 등급을 정하여 서로 비교관찰하였고, 결과를 Table 1과 2, 3, 4에 정리하였다.

## 결 과

### 1. Azan 염색

각 군의 화상부위에서 푸른색으로 염색된 섬유 분포양상을 비교관찰하였다.

C군과 Ca군은 섬유의 분포양상이 비슷하였다 (Figs. 1, 2).

B군의 1일째 화상부위의 표피와 진피, 피부밑조직에는 푸른색의 섬유가 거의 관찰되지 않았고, 근육과 근육밀결합조직은 정도(+)로 관찰되었다(Fig. 3). Ba군의 1일째 화상부위의 표피와 진피에서는 푸른색의 섬유가 거의 관찰되지 않았으나, 피부밑조직에서는 강하게 관찰되었고(+++), 근육과 근육밀결합조직은 중등도(++)로 관찰되었다(Fig. 4). B군과 Ba군의 피부밑조직과 근육, 근육밀결합조직에서는 3일에는 중등도(++)로, 7일에는 강하게(+++) 관찰되었으나, 표피와 진피에서는 관찰할 수 없었다. 15일째 Ba군의 표피에서는 섬유가 미약하게 관찰되기 시작하였고, 진피에서는 정도(+) 또는 중등도(++)로 관찰되었으나, B군의 표피에서는 섬유를 관찰할 수 없었고, 진피는 미약하거나 관찰할 수 없었다. 20일째 Ba군의 섬유분포양상은 대조군과 비슷하였으나 염색정도는 대조군 보다는 다소 염색정도가 낮았다. B군의 표피와 진피에서는 아직 섬유가 관찰되지 않는 부분이 있었으나, 피부밑결합조직과 근육, 근육밀결합조직에서 중등도(+) 또는 강하게(+++) 관찰되었고 Ba군

보다 염색되는 섬유가 많았다.

### 2. 섬유결합소 면역조직화학염색

C군과 Ca군 모두 음성반응(-)으로 관찰되었다.

B군에서는 1일째 표피에서는 중등도 양성반응(+++)으로, 진피에서는 음성반응(-), 피부밑조직에서는 미약한 양성반응(±)으로, 근육과 근육밀결합조직에서는 음성반응(-)으로 관찰되었다. 3일째 표피와 진피에서는 음성반응(-), 피부밑조직에서는 미약한 양성반응(±)으로, 근육은 음성반응(-), 근육밀결합조직에서는 정도의 양성반응(+)으로 관찰되었다. 7일째 표피와 진피는 음성반응(-), 피부밑조직에서는 미약한 양성반응(±)으로, 근육과 근육밀결합조직에서는 정도의 양성반응(+)으로 관찰되었다. 15일째 표피와 진피, 피부밑조직, 근육, 근육밀결합조직 모두 음성반응(-)으로 관찰되었다(Fig. 5). 20일째 표피에서는 정도의 양성반응(+)으로, 진피에서는 미약한 양성반응(±), 피부밑조직, 근육과 근육밀결합조직에서는 음성반응(-)으로 관찰되었다.

Ba군의 1일째 표피에서는 중등도 양성반응(+++)으로, 진피에서는 음성반응(-), 피부밑조직에서는 미약한 양성반응(±)으로, 근육과 근육밀결합조직에서는 음성반응(-)으로 관찰되었다. 3일째 표피와 진피에서는 음성반응(-), 피부밑조직에서는 미약한 양성반응(±)으로, 근육은 중등도의 양성반응(++), 근육밀결합조직에서는 정도의 양성반응(+)으로 관찰되었다. 7일째 표피와 진피, 피부밑조직에

**Table 1.** Immunoreactivities of fibronectin in the burn wound of rat

	Control		1st D		3rd D		7th D		15th D		20th D	
	C	Ca	B	Ba	B	Ba	B	Ba	B	Ba	B	Ba
Epi	-	-	++	++	-	-	-	-	-	++	+	++
Der	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	±	++
SC	-	-	±	±	±	±	±	-	-	±	-	-
M	-	-	-	-	-	++	+	±	-	-	-	-
CM	-	-	-	-	+	+	+	++	-	-	-	-

**Abbreviation**

C : normal control; Ca : acupuncture treatment; B : burn treatment; Ba : acupuncture treatment after burn treatment; D : day  
 Epi: epidermis; Der : dermis; SC : subcutaneous tissue; M : muscle; CM : connective tissue below muscle  
 - : negative immunoreactivity; ± : trace immunoreactivity; + : mild immunoreactivity; ++ : moderate immunoreactivity  
 +++ : strong immunoreactivity

**Table 2.** Immunoreactivities of type I collagen in the burn wound of rat

	Control		1st D		3rd D		7th D		15th D		20th D	
	C	Ca	B	Ba	B	Ba	B	Ba	B	Ba	B	Ba
Epi	-	-	-	-	-	±	-	±	-	++	+	++
Der	±	±	-	-	+	-	-	-	++	+	+	+
SC	-	+	±	±	-	±	±	±	+	±	-	±
M	-	-	-	-	+	±	-	+	-	-	-	-
CM	±	-	++	+	++	++	++	++	-	++	-	-

**Abbreviation**

C : normal control; Ca : acupuncture treatment; B : burn treatment; Ba : acupuncture treatment after burn treatment; D : day  
 Epi : epidermis; Der : dermis; SC : subcutaneous tissue; M : muscle; CM : connective tissue below muscle  
 - : negative immunoreactivity; ± : trace immunoreactivity; + : mild immunoreactivity, ++ : moderate immunoreactivity  
 +++ : strong immunoreactivity

서는 음성반응(-), 근육은 미약한 양성반응(±)으로, 근육밀결합조직에서는 중등도의 양성반응(++)으로 관찰되었다. 15일째 표피에서는 중등도의 양성반응(++)으로, 진피는 경도의 양성반응(+)을 나타냈고, 피부밀조직은 미약한 양성반응(±)으로, 근육과 근육밀결합조직은 음성반응(-)으로 관찰되었다(Fig. 6). 20일째 표피와 진피는 중등도의 양성반응(++)으로, 피부밀조직, 근육과 근육밀결합조직은 음성반응(-)으로 관찰되었다(Table 1).

**3. 제 I 형 아교질 면역조직화학적 염색**

C군의 표피와 피부밀조직, 근육은 음성반응(-)으로, 진피와 근육밀결합조직에서는 미약한 양성반응(±)으로 관찰되었다.

Ca군 표피와 근육, 근육밀결합조직은 음성반응(-)으로, 진피는 미약한 양성반응(±)으로, 피부밀조직은 경도의 양성반응(+)으로 관찰되었다.

B군의 1일째 표피와 진피에서는 음성반응(-), 피부밀조직에서는 미약한 양성반응(±)으로, 근육은 음성반응(-), 근육밀결합조직에서는 중등도의 양성반응(++)으로 관찰되었다. 3일째 표피에서는 음성반응(-), 진피는 경도의 양성(+), 피부밀조직에서는 음성반응(-), 근육에서는 경도의 양성반응(+), 근육밀결합조직에서는 중등도의 양성반응(++)으로 나타났다. 7일째 표피와 진피에서는 음성반응(-), 피부밀조직에서는 미약한 양성반응(±)으로, 근육은 음성반응(-), 근육밀결합조직에서는

중등도의 양성반응(++)으로 관찰되었다. 15일째 표피에서는 음성반응(-)으로, 진피는 중등도의 양성반응(++)을 나타냈고, 피부밀조직은 경도의 양성반응(+)으로, 근육과 근육밀결합조직은 음성반응(-)으로 관찰되었다(Fig. 7). 20일째 표피와 진피는 경도의 양성반응(+)으로, 피부밀조직, 근육과 근육밀결합조직은 음성반응(-)으로 관찰되었다.

Ba군의 1일째 표피와 진피에서는 음성반응(-), 피부밀조직에서는 미약한 양성반응(±)으로, 근육은 음성반응(-), 근육밀결합조직에서는 경도의 양성반응(+)으로 관찰되었다. 3일째 표피에서는 미약한 양성반응(±), 진피는 음성반응(-), 피부밀조직과 근육에서는 미약한 양성반응(±), 근육밀결합조직에서는 중등도의 양성반응(++)으로 나타났다. 7일째 표피에서는 미약한 양성반응(±), 진피는 음성반응(-), 피부밀조직에서는 미약한 양성반응(±), 근육에서는 경도(+), 근육밀결합조직에서는 중등도의 양성반응(++)으로 관찰되었다. 15일째 표피에서는 중등도의 양성반응(++)으로, 진피는 경도의 양성반응(+)을 나타냈고, 피부밀조직은 미약한 양성반응(±)으로, 근육은 음성반응(-), 근육밀결합조직은 중등도의 양성반응(++)으로 관찰되었다(Fig. 8). 20일째 표피에서는 중등도의 양성반응(++)으로, 진피는 경도의 양성반응(+)을 나타냈고, 피부밀조직은 미약한 양성반응(±)으로, 근육과 근육밀결합조직은 음성반응(-)으로 관찰되었다(Table 2).

**Table 3.** Immunoreactivities of type IV collagen in the burn wound of rat

	Control		1st D		3rd D		7th D		15th D		20th D	
	C	Ca	B	Ba	B	Ba	B	Ba	B	Ba	B	Ba
Epi	+	+	-	±	±	±	+	+	+	++	+	+
Der	±	±	-	-	-	-	±	±	±	+	±	±
SC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M	-	+	±	±	±	±	±	±	+	++	±	±
CM	-	-	-	±	+	±	+	-	-	-	-	-

Abbreviation

C : normal control; Ca : acupuncture treatment; B : burn treatment; Ba : acupuncture treatment after burn treatment; D : day  
 Epi: epidermis; Der : dermis; SC : subcutaneous tissue; M : muscle; CM : connective tissue below muscle  
 - : negative immunoreactivity; ± : trace immunoreactivity; + : mild immunoreactivity, ++ : moderate immunoreactivity  
 +++ : strong immunoreactivity

**4. 제 IV 형 아교질 면역조직화학염색**

C군 표피에서는 경도의 양성반응(+)으로, 진피에서는 미약한 양성반응(±), 피부밑조직, 근육과 근육밀결합조직에서는 음성반응(-)으로 관찰되었다.

Ca군 표피와 근육은 경도의 양성반응(+)으로, 진피에서는 미약한 양성반응(±), 피부밑조직과 근육밀결합조직에서는 음성반응(-)으로 관찰되었다.

B군에서는 1일째 표피와 진피, 피부밑조직에서는 음성반응(-), 근육에서는 미약한 양성반응(±)으로, 근육밀결합조직에서는 음성반응(-)으로 관찰되었다. 3일째 표피에서는 미약한 양성반응(±)으로, 진피와 피부밑조직은 음성반응(-)으로, 근육은 미약한 양성반응(±)으로, 근육밀결합조직은 경도의 양성반응(+)으로 관찰되었다. 7일째 표피는 경도의 양성반응(+), 진피는 미약한 양성반응(±), 피부밑조직은 음성반응(-), 근육은 미약한 양성반응(±)으로, 근육밀결합조직은 경도의 양성반응(+)으로 관찰되었다(Fig. 9). 15일째 표피는 경도의 양성반응(+), 진피는 미약한 양성반응(±), 피부밑조직은 음성반응(-), 근육은 경도의 양성반응(+)으로, 근육밀결합조직은 음성반응(-)으로 관찰되었다. 20일째 표피는 경도의 양성반응(+), 진피는 미약한 양성반응(±), 피부밑조직은 음성반응(-), 근육은 미약한 양성반응(±)으로, 근육밀결합조직은 음성반응(-)으로 관찰되었다.

Ba군의 1일과 3일째 표피에서는 미약한 양성반

응(±)으로, 진피와 피부밑조직은 음성반응(-)으로, 근육과 근육밀결합조직은 미약한 양성반응(±)으로 관찰되었다. 7일째 표피는 경도의 양성반응(+), 진피는 미약한 양성반응(±), 피부밑조직은 음성반응(-), 근육은 미약한 양성반응(±)으로, 근육밀결합조직은 음성반응(-)으로 관찰되었다(Fig. 10). 15일째 표피는 중등도의 양성반응(++)으로, 진피는 경도의 양성반응(+), 피부밑조직은 음성반응(-), 근육에서는 중등도의 양성반응(++)으로, 근육밀결합조직에서는 음성반응(-)으로 관찰되었다. 20일째 표피는 경도의 양성반응(+), 진피는 미약한 양성반응(±), 피부밑조직은 음성반응(-), 근육은 미약한 양성반응(±)으로, 근육밀결합조직은 음성반응(-)으로 관찰되었다(Table 3).

**5. 라미닌 면역조직화학염색**

C군의 표피와 진피, 피부밑조직, 근육에서는 음성반응(-)으로, 근육밀결합조직에서는 강한 양성반응(+++)으로 관찰되었다.

Ca군의 표피, 피부밑조직과 근육은 음성반응(-), 진피와 근육밀결합조직에서는 미약한 양성반응(±)으로 관찰되었다.

B군에서는 1일째 표피는 음성반응(-), 진피는 미약한 양성반응(±)으로, 피부밑조직은 음성반응(-), 근육에서는 중등도의 양성반응(++)으로, 근육밀결합조직은 음성반응(-)으로 관찰되었다. 3일의 표피와 진피, 피부밑조직에서는 음성반응(-)으

**Table 4.** Immunoreactivities of laminin in the burn wound of rat

	Control		1st D		3rd D		7th D		15th D		20th D	
	C	Ca	B	Ba	B	Ba	B	Ba	B	Ba	B	Ba
Epi	-	-	-	-	-	±	+	-	+	++	++	++
Der	-	±	±	-	-	-	+	-	±	+	+	+
SC	-	-	-	-	-	-	+	-	-	±	±	+
M	-	-	++	++	+	+	±	-	-	-	-	-
CM	+++	±	-	-	-	-	+++	+++	-	-	-	-

Abbreviation

C : normal control; Ca : acupuncture treatment; B : burn treatment; Ba : acupuncture treatment after burn treatment; D : day  
 Epi: epidermis; D-surf : superficial layer of dermis; D-deep : deep layer of dermis; M : muscle; SC : subcutaneous tissue  
 - : negative immunoreactivity; ± : trace immunoreactivity; + : mild immunoreactivity, ++ : moderate immunoreactivity  
 +++ : strong immunoreactivity

로, 근육은 경도의 양성반응으로, 근육밀결합조직은 음성반응(-)으로 관찰되었다. 7일째 표피와 진피, 피부밀조직에서는 경도의 양성반응(+)으로, 근육에서는 미약한 양성반응(±)으로, 근육밀결합조직은 강한 양성반응(+++)으로 관찰되었다(Fig. 11). 15일째 표피는 경도의 양성반응(+)으로, 진피는 미약한 양성반응(±)으로, 피부밀조직과 근육, 근육밀결합조직에서는 음성반응(-)으로 관찰되었다. 20일째 표피는 중등도의 양성반응(++)으로, 진피는 경도의 양성반응(+)으로, 피부밀조직에서는 미약한 양성반응(±), 근육과 근육밀결합조직에서는 음성반응(-)으로 관찰되었다.

Ba군의 1일째 표피와 진피, 피부밀조직은 음성반응(-), 근육에서는 중등도의 양성반응(++)으로, 근육밀결합조직은 음성반응(-)으로 관찰되었다. 3일의 표피는 미약한 양성반응(±)으로, 진피와 피부밀조직에서는 음성반응(-)으로, 근육은 경도의 양성반응(+)으로, 근육밀결합조직은 음성반응(-)으로 관찰되었다. 7일째 표피와 진피, 피부밀조직, 근육에서는 음성반응(-)으로, 근육밀결합조직에서는 강한 양성반응(+++)으로 관찰되었다(Fig. 12). 15일째 표피는 중등도의 양성반응(++)으로, 진피는 경도의 양성반응(+)으로, 피부밀조직은 미약한 양성반응(±)으로, 근육과 근육밀결합조직에서는 음성반응(-)으로 관찰되었다. 20일째 표피는 중등도의 양성반응(++)으로, 진피와 피부밀조직에서는 경도의 양성반응(+)으로, 근육과 근육밀결합조직에서는 음성반응(-)으로 관찰되었다(Table 4).

고 찰

창상은 염증(1단계), 증식 및 조직 형성(2단계), 조직 재생형(3단계)의 과정을 거치면서 치유되는 데, 이러한 과정에는 세포밖바탕질(extracellular matrix, ECM)을 형성하는 여러 인자들이 관여한다. 세포밖바탕질은 라미닌(laminin), 섬유결합소(fibronectin), 아교질(collagen), 엘라스틴(elastin), 하이알루론산(hyaluronic acid), 단백당질(proteoglycan) 등으로 구성되어 있고, 조직의 구조를 지지하며, 상처치유과정에서 세포들이 이동하는 토대로 이용된다. 세포밖바탕질의 단백질은 창상치유과정 중 세포밖바탕질에 나타났다가 사라지는 시기가 종류에 따라 각각 다르며 이 때문에 세포밖바탕질의 성분 조성에 많은 변화가 일어난다(Falabella와 Falanga 2001).

Falabella와 Falanga (2001)는 창상치유과정 초기에 혈소판이 섬유결합소 같은 매개인자들을 분비하는 등 필수적인 역할을 한다고 하였다. 창상치유의 2번째 단계인 증식 및 조직형성과정에서는 각질세포의 이동과 integrin이 중요한 역할을 하며, 화상 후 상피 재생이 시작되고, 상처 가장자리와 상처 내에 있는 표피세포들이 증식하기 시작하여 손상된 표피와 바닥막(basement membrane)을 대체하고, 이러한 과정을 촉진시키는 것이 섬유결합소와 제IV형 아교질이며, 반면 이를 억제하는 것이 라미닌이라고 하였다.

한편 진피 심층부에 심한 화상이나 손상을 받은 후에는 과형성반흔(hypertrophic scarring)이 종종 생기며 이는 세포밖바탕질에 아교질을 비롯한 여러 단백질이 과잉 분포하기 때문이라고 한다(Ghahary 1995). 창상의 수축은 창상 치유에 중요한 과정이지만, 심한 경우 과도한 반흔 형성과 병적인 창상 구축을 초래하게 된다(Papantonio 1988, Falabella와 Falanga 2001).

섬유결합소는 염증이 동안 혈소판에 의해 분비되어 세포의 응집과 이동에 관여하며, 단핵구의 화학선택물질로 작용하고, 각질세포의 이동을 촉진시킨다(Woodley 등 1988, Dastyh 등 1991). 또한 초기 육아조직의 세포밖바탕질에 제일 먼저 생성되어 세포의 이동을 위한 바탕질로 이용되고, 창상 수축을 일으키는 근육모세포(myoblast)를 연결시키고, 아교질 침착을 위한 주형 등으로 작용한다고 알려져있다(Longaker 등 1989, Whitby와 Ferguson 1991, Falabella와 Falanga 2001).

섬유결합소는 창상 1일째에 결합조직과 clot 주위에 나타나기 시작하며, 3일째에는 진행하는 상피판에 많이 분포한다. 5일째에는 섬유결합소 바탕질이 형성되고, 근육모세포는 이 섬유결합소 바탕질을 이용하여 창상 수축을 일으킨다고 하였다. 초기의 섬유결합소 바탕질은 세포와 혈장의 단백질분해효소(protease)에 의해 분해되고, 바탕질은 시간이 지남에 따라 제III형 아교질로, 최종적으로 제I형 아교질로 교체된다(Falabella와 Falanga 2001). 상피가 재생되면 두꺼워졌던 바닥막이 제 모습을 찾고, 섬유결합소와 fibrinogen이 사라지며, 제IV형 아교질과 라미닌이 바닥막에 다시 나타난다(Clark 등 1982, Brasken 등 1990).

Ghahary 등(1996)은 화상 후 과형성된 반흔조직의 세포밖바탕질에서는 섬유결합소와 제I형 및 III형 전아교질 mRNA가 과도하게 나타난다고 하였다. Chappell 등(1999)은 화상을 입힌 토끼에게 합성 섬유결합소를 투여해 화상을 개선시켰다고 보고하였으며, Huan 등(1994)도 화상을 입힌 쥐의 화상 부위에 섬유결합소를 도포해서 화상 치유를 촉진시켰다고 하였다. 본 실험에서 섬유결합소는 화상 1일에 B군과 Ba군의 표피와 피부밑조직에서

먼저 관찰되었다. 근육에서는 3일에 Ba군에서 중등도(++)로 관찰되었으나, B군은 7일째에 관찰되었으며, 15일과 20일에는 두 군 모두 관찰되지 않았다. 진피에서는 15일에 Ba군에서 경도의 양성(+), 20일에 중등도(++)로 관찰되었고, B군은 음성반응과 미약한 양성반응으로 관찰되었다. 이는 침의 자극이 초기 창상 치유에 중요한 역할을 하는 섬유결합소의 생성을 증진시켰다고 생각할 수 있었다.

아교질(collagen)은 주로 섬유모세포에서 생산되고, 단핵구의 화학선택물질로 작용하며, 각질세포의 이동을 촉진시키는 역할을 한다. 정상 결합조직에는 근원섬유성 아교질(제I형, III형, V형)과 바닥막 아교질(제IV형과 제VII형), 그리고 기타 사이질성 아교질(제VI형, VII형 VIII형) 등이 분포하고 있다(Woodley 등 1988, Haake 등 2001). Garner(1998)는 아교질 생성이 각질세포의 생산물에 의해서 조절된다고 하였고, 이러한 이유 때문에 표피가 없는 화상부위에서는 섬유모세포가 아교질을 과량 생산하여 과형성 반흔이 생긴다고 하였다.

본 실험에서 제I형 아교질은 B군, Ba군 모두에서 1일과 3일, 7일에 근육밑결합조직에서 중등도의 양성반응(++)으로 관찰되었고, 15일에는 Ba군에서만 관찰되었다. 3일에는 근육과 진피, 피부밑조직에서도 관찰할 수 있었다. 표피에서는 3일에 Ba군에서 먼저 나타나기 시작하여 20일까지 유지되었고, B군에서는 20일에 관찰되었다. 이와 같은 실험결과는 침의 자극이 제I형 아교질의 생산을 증진시켰다고 생각할 수 있었다.

제IV형 아교질은 바닥막의 구조 단백질로서 진피-표피 접합부, 혈관, 피부 부속기에 존재하고, 창상 후 7일째에 나타난다고 하였다(Falabella와 Falanga 2001). 본 실험에서는 1일과 3일에 미약하게 표피와 근육, 근육밑결합조직에 나타나기 시작하였고, 7일에는 경도 또는 중등도로 관찰되기 시작하였으나, B군과 Ba군 사이의 차이는 없었다.

라미닌은 상피세포를 결합조직의 바탕질(stroma)과 분리시키는 바닥막에 존재하는 세포밖바탕질 당단백질로  $\alpha$ 와  $\beta$ ,  $\gamma$  3개의 사슬로 구성되어 있고, 12종의 이형이 밝혀져 있으며, 지방세포, 근육세포, 말초신경세포 등을 둘러싸는 바닥막에도 존재한다

(Eisenmenger와 Nerlich 1998, Aberdam 등 2000). 피부에도 라미닌이 분포하고 있으며, 라미닌 사슬구조에 이상이 생기면 질병이 발생한다(Fleischmajer 등, 2000, McGowan와 Marinkovich 2000).

Woodley와 Chen (2001), Clark 등(1982), Brasken 등(1990)은 라미닌은 바닥막의 주요 구성물질로, 바닥막에 함유된 제IV형 및 VII형 아교질, 진피에 함유된 제I형, 제III형, 제VI형 아교질 등이 각질세포와 직접 접촉하는 것을 억제한다고 하였다. 상처가 생겨 라미닌의 구성사슬이 손상되면, 아교질과 각질세포가 직접 상호작용을 할 수 있게 되며, 이로 인해 각질세포의 이동이 자극된다고 하였다. 각질세포가 이동하여, 창상을 회복하고, 상처의 표피가 재생되는 7일 경에 라미닌은 진피-표피 접합부에 다시 나타난다고 하였다. 본 실험에서 근육에서는 1일과 3일에 B와 Ba군에서 모두 관찰되었고, 7일과 15일, 20일에는 음성반응으로 나타났다. 표피에서는 Ba군 3일에 미약하게 관찰되었다가 7일에는 관찰되지 않았고, B군은 경도의 양성반응으로 관찰되었다. 7일군의 경우 B군에서 표피, 진피, 피부밑조직, 근육 그리고 근육밑결합조직 모두에서 경도의 양성반응을 나타내었으나, Ba군은 음성반응을 나타냈다. 그러나 7일군을 제외한 다른 실험군에서는 두 군 사이에 큰 차이가 없었다. 15일 이후에는 표피에서 라미닌이 증가되는 경향을 보였는데, Ba군은 중등도의 양성반응으로, B군은 경도의 양성반응으로 관찰되었다. 이와 같은 결과로 침의 자극이 화상 초기에는 라미닌의 생성에 영향을 주지 못하는 것으로 생각할 수 있었고, 후반기에 라미닌의 생성이 증가되는 것으로 보아, 이에 대한 연구가 더 필요하다고 생각한다.

이상의 결과를 종합해보면 침의 자극은 흰쥐의 피부에서 섬유결합소, 제I형 아교질의 생성을 증진시킴으로 화상치유과정을 촉진시킨다고 생각할 수 있었다.

## 참 고 문 헌

김남수 : 화상의 침구치료. 제3차 국제침구학술심포지움

논문집 3-9, 1992.

김세민 : 화상의 조기응급치료. 대한의학협회지 25 : 980-986, 1982.

Aberdam D, Virolle T, Simon-Assmann P : Transcriptional regulation of laminin gene expression. *Microsc Res Tech* 51 : 228-237, 2000.

Brasken P, Lehto M, Renvall S : Fibronectin, laminin, and collagen types I, III, IV and V in the healing rat colon anastomosis. *Ann Chir Gynaecol* 79 : 65-71, 1990.

Chappell VL, LaGrone L, Mileski WJ : Inhibition of leukocyte-mediated tissue destruction by synthetic fibronectin peptide (Trp-9-Tyr). *J Burn Care Rehabil* 20 : 505-510, 1999.

Clark RA, Lanigan JM, DellaPelle P, Manseau E, Dvorak HF, Colvin RB : Fibronectin and fibrin provide a provisional matrix for epidermal cell migration during wound reepithelialization. *J Invest Dermatol* 79 : 264-269, 1982.

Dastych J, Costa JJ, Thompson HL, Metcalfe DD : Mast cell adhesion to fibronectin. *Immunology* 73 : 478-484, 1991.

Eisenmenger W, Nerlich A : The significance of collagen in determining the age of a wound. *Zeitschrift fur Rechtsmedizin* 100 : 79-100, 1998.

Falabella AF, Falanga V : Wound healing in *The biology of the skin* edited by The Parthenon Publishing Group, pp. 281-297, 2001.

Fleischmajer R, Kuroda K, Utani A, Douglas MacDonald E, Perlsh JS, Arikawa-Timpl R, Yamada Y : Differential expression of laminin alpha chains during proliferative and differentiation stages in a model for skin morphogenesis. *Matrix Biol* 19 : 637-647, 2000.

Garner : Epidermal regulation of dermal fibroblast activity. *Plast Reconstr Surg* 102 : 135-139, 1998.

Ghahary A, Shen YJ, Nedelec B, Wang R, Scott PG, Tredget EE : Collagenase production is lower in post-burn hypertrophic scar fibroblasts and is reduced by insulin-like growth factor-1. *J Invest Dermatol* 106 : 476-481, 1996.

Ghahary A, Shen YJ, Scott PG, Tredget EE : Immunolocalization of TGF-beta 1 in human hypertrophic scar and dermal tissues. *Cytokine* 7 : 184-190, 1995.

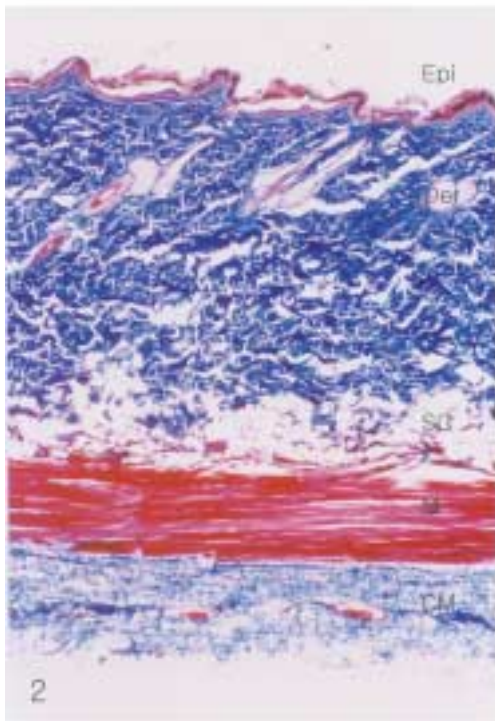
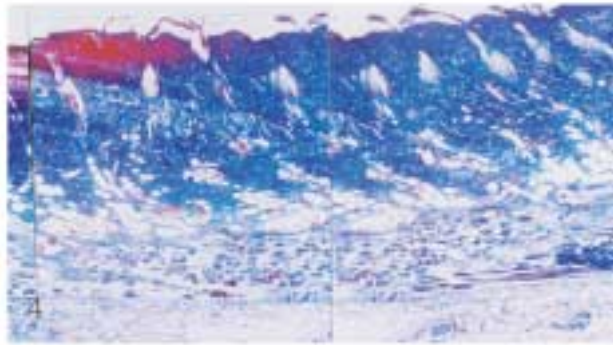
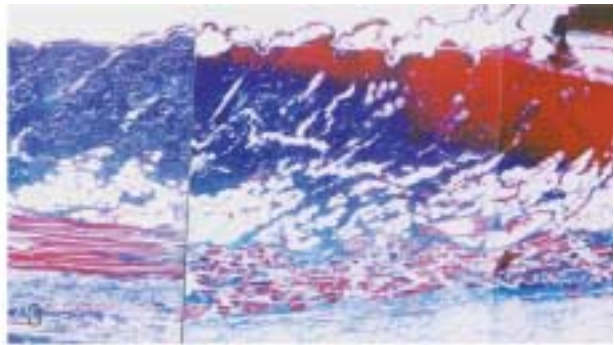
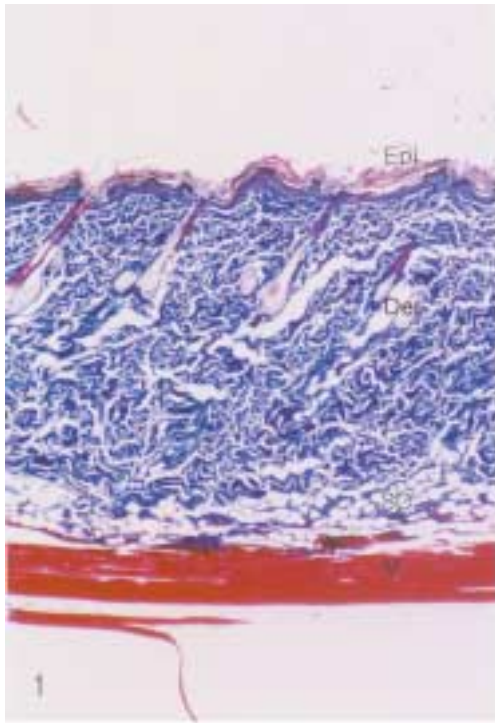
Haake A, Scott GA, Holbrook KA : The structure and function of the skin : overview of the epidermis and dermis in *The biology of the skin* edited by The Parthenon Publishing Group, pp. 34-36, 2001.

Huan JN, Yan XJ, Chen YL : Topical fibronectin for enhance-

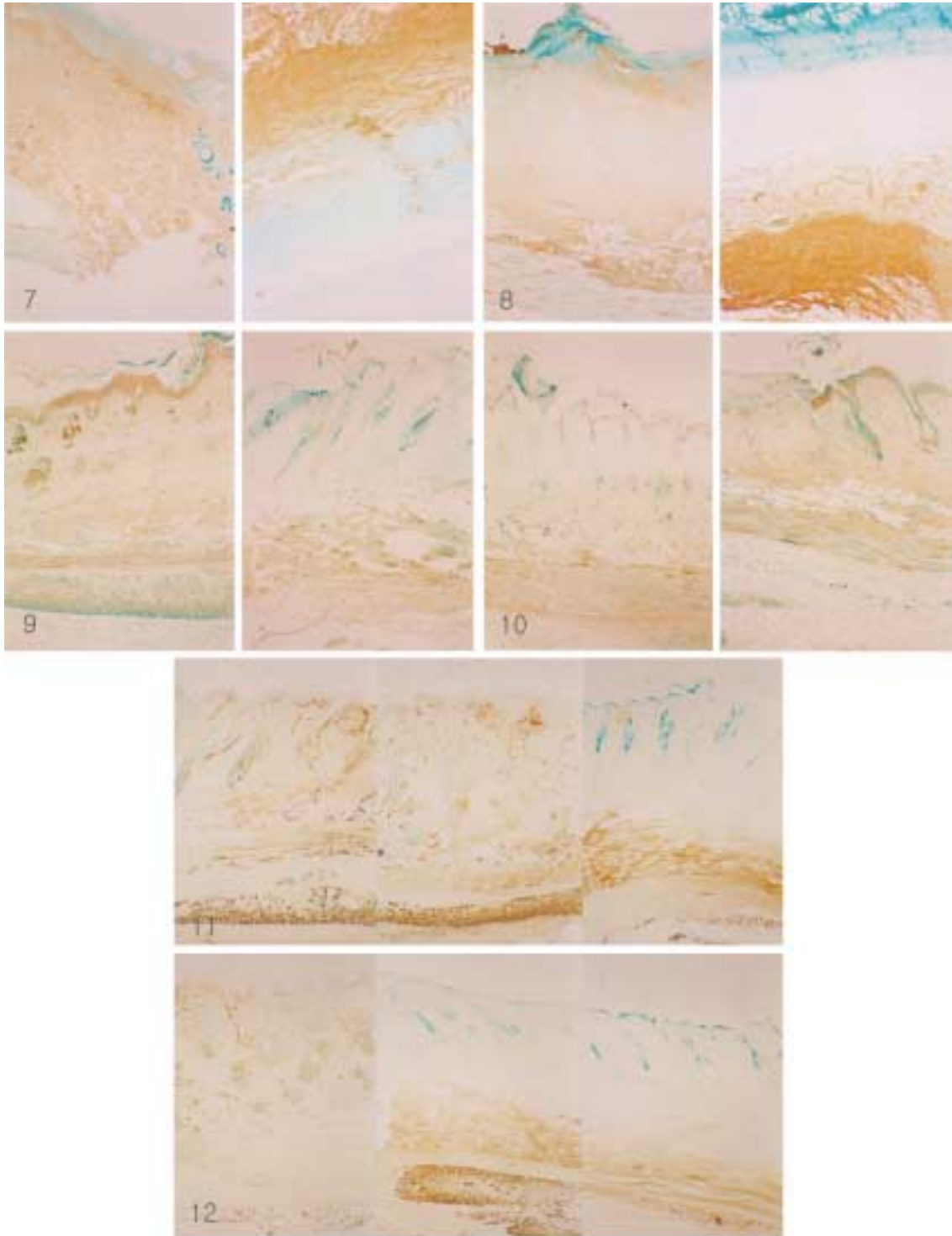
- ment of burn healing. *Zhonhua wai ke za zhi* [Chinese journal of surgery] 32 : 121–122, 1994.
- Lewis SM, Clelland JA, Knowles CJ, Jackson JR, Dimick AR : Effects of auricular-like transcutaneous electric nerve stimulation on pain levels following wound care in patients with burns : a pilot study. *J Burn Care Rehabil* 11 : 322–329, 1990.
- Longaker MT, Whitby DJ, Ferguson MW, Harrison MR, Crombleholme TM, Langer JC, et al. : Studies in fetal wound healing: III. Early deposition of fibronectin distinguishes fetal from adult wound healing. *J Pediatr Surg* 24 : 799–805, 1989.
- McGowan KA, Marinkovich MP : Laminins and human disease. *Microsc Res Tech* 51 : 262–279, 2000.
- Papantonio C : Alternative medicine and wound healing. *Osteotomy/wound management* 44 : 44–46, 1988.
- Sumano H, Mateos G : The use of acupuncture-like electrical stimulation for wound healing of lesions unresponsive to conventional treatment. *Am J Acupunt* 1999; 27 : 5–14, 1999.
- Whitby DJ, Ferguson MW : The extracellular matrix of lip wounds in fetal, neonatal and adult mice. *Development* 112 : 651–668, 1991.
- Woodley DT, Bachmann PM, O’Keefe EJ : Laminin inhibits human keratinocyte migration. *J Cell Physiol* 136 : 140–146, 1988.
- Woodley DT, Chen M : The basement membrane zone in The biology of the skin edited by The Parthenon Publishing Group, pp. 133–143, 2001.

## Legends for Figures

- Fig. 1, 2.** No-treatment group (C) and acupuncture treatment group (Ca) showed similar results in epidermis (Epi), dermis (Der), subcutaneous tissue (SC), muscle (M) and connective tissue below muscle (CM) in Azan staining.
- Fig. 3.** In 1st day in B, blue fiber was rarely observed in epidermis, dermis and subcutaneous tissue, and was observed mild staining in muscle and connective tissue below muscle (Azan stain).
- Fig. 4.** In 1st day in Ba, blue fiber was rarely observed in epidermis and dermis, strong staining in subcutaneous tissue, moderate staining in muscle and connective tissue below muscle (Azan stain).
- Fig. 5.** In 15th day in B, fibronectin was observed negative stainings in epidermis, dermis, subcutaneous tissue, muscle and connective tissue below muscle.
- Fig. 6.** In 15th day in Ba, fibronectin was observed moderate staining in epidermis, mild staining in dermis, weak staining in subcutaneous tissue, negative staining in muscle and connective tissue below muscle.
- Fig. 7.** In 15th day in B, type I collagen was observed negative staining in epidermis, moderate staining in dermis, mild staining in subcutaneous tissue, negative staining in muscle and connective tissue below muscle.
- Fig. 8.** In 15th day in Ba, type I collagen was observed moderate staining in epidermis, mild staining in dermis, weak staining in subcutaneous tissue, negative staining in muscle and moderate staining in connective tissue below muscle.
- Fig. 9.** In 7th day in B, type IV collagen was observed mild staining in epidermis, weak staining in dermis, negative staining in subcutaneous tissue, weak staining in muscle and mild staining in connective tissue below muscle.
- Fig. 10.** In 7th day in Ba, type IV collagen was observed mild staining in epidermis, weak staining in dermis, negative staining in subcutaneous tissue, weak staining in muscle and negative staining in connective tissue below muscle.
- Fig. 11.** In 7th day in B, laminin was observed mild staining in epidermis, dermis and subcutaneous tissue, weak staining in muscle and strong staining in connective tissue below muscle.
- Fig. 12.** In 7th day in Ba, laminin was observed negative staining in epidermis, dermis, subcutaneous tissue and muscle, and strong staining in connective tissue below muscle.



— 화상치유시 세포외기질 단백질의 발현 —



Abstract

## The Effects of Acupuncture on Fibronectin, Collagens and Laminin in the Burn Wound Healing of Rats

Ho Jun Chang, Bong Sik Woo<sup>1</sup>, Che Soo Shin<sup>1</sup>,  
Youn Kyoung Seo<sup>1</sup>, Doo Jin Paik<sup>1</sup>, Nam Soo Kim<sup>2</sup>

*Hanshin Clinic, <sup>1</sup>Department of Anatomy & Cell Biology, College of Medicine, Hanyang University*

*<sup>2</sup>Namsoo Acupuncture Clinic, Seoul, Korea*

The present study was performed to examine whether acupuncture can regulate the expression of extracellular matrix proteins that play important roles in burn wound healing of rat, such as fibronectin, type I and IV collagens, and laminin.

Sprague-Dawley rats weighing 250~300 g were divided into 4 groups such as normal control group (C), only acupuncture treatment group (Ca), burn treatment group (B), and a group for acupuncture treatment after burn (Ba). We burned 15×25 mm in size for 15~18 seconds at lumbar area of rats with special iron adapter and acupunctured at 5~7 mm in diameter and 1 cm in depth using 0.25 mm×50 mm acupuncture needle for 20 minutes in wound area. Rats in group Ca were acupunctured once, and rats in group Ba were acupunctured every 12 hours 3 times. Rats sacrificed at days 1, 3, 7, 15 and 20 after burn treatment. Histological changes were examined by azan staining methods and expression profiles of fibronectin, type I and IV collagens, and laminin were detected by immunohistochemical staining methods.

The results we obtained were as follows:

1. At day 1, fibers in epidermis, dermis and subcutaneous tissue in both groups B and Ba were not observed. However groups B and Ba exhibited fibers stained mildly and moderately, respectively, in muscle and connective tissues. At day 20, the level of fiber in group B which was comparable to group C was less than that of in B group.
2. At day 3, fibronectin in group Ba was observed in the muscle. At days 15 and 20, fibronectin was increased in epidermis and dermis of group Ba compared with those of group B.
3. Type I collagen in subcutaneous tissue was observed at days 1, 3 and 7 in both groups B and Ba. However type I collagen was observed only in group Ba at day 15. In the epidermis of group Ba, type I collagen was observed at day 3 and maintained until day 20, while observing only at day 20 in group B.
4. For type IV collagen, both groups B and Ba showed similar results.
5. For laminin, both groups B and Ba showed similar results except the 7th day results. However after day 15, laminin was stained moderately and mildly in groups Ba and B, respectively.

These results suggest that acupuncture may improve the burn wound healing by increasing fibronectin and type I collagen.

**Key words** : Acupuncture, Rat, Burn, Skin, Extracellular matrix protein