

원저

葛根藥鍼이 알콜 中毒 白鼠 海馬의 Nitric Oxide Synthase에 미치는 影響

정재훈 · 김호현* · 이은용

세명대학교 한의과대학 침구학교실 · *세명대학교 한의과대학 생리학교실

Abstract

Effects of Puerariae radix herb-acupuncture on nitric oxide synthase expression in the hippocampus of alcohol-intoxicated Sprague-Dawley rats

Jung Jae-houn, Kim Ho-hyun* and Lee Eun-yong

Department of Acupuncture & Moxibustion,
College of Oriental Medicine, Se-Myung University
*Department of Physiology,
College of Oriental Medicine, Se-Myung University

Objective : The purpose of this study was to determine the effects of *Puerariae radix* (PR) herb-acupuncture on nitric oxide synthase(NOS) expression in hippocampus of alcohol-intoxicated Sprague-Dawley(SD) rats.

Methods : SD rats were randomly assigned into 6 groups : normal group, control group, alcohol with herb-acupuncture group(0.3, 3, 30 and 300mg/kg PR). Normal groups were received with NaCl, while alcohol intoxication groups were injected intraperitoneally with alcohol(2g/kg) twice per day for 3 days. Herb-acupuncture groups were injected on Zhongwan(CV12) for 5 consecutive days. For the detection of NADPH-d-positive cells in hippocampus, immunohistochemistry was performed.

* 본 연구는 2002년도 세명대학교 교내 학술비 지원에 의해서 수행되었음.

· 접수 : 2003년 5월 17일 · 수정 : 2003년 6월 10일 · 채택 : 2003년 7월 12일

· 교신저자 : 이은용, 충북 제천시 신월동 산 21-11 세명대학교 부속한방병원 침구과

Tel. 043-649-1816 E-mail : acupley@semyung.ac.kr

Results: In control group, a significant decrease in NADPH-d-positive cells was observed compared to normal group. In alcohol with herb-acupuncture group, NADPH-d-positive cells increased significantly compared to control group.

Conclusions: The present results revealed that NOS expression is enhanced in the hippocampus of SD rats through PR herb-acupuncture in an acute alcoholic intoxication condition.

Key words: ethanol, hippocampus, NADPH-d-diaphorase, NOS, *Puerariae radix*

I. 서론

중추신경계는 알코올 독성에 민감한 곳으로¹⁾, 해마는 알코올에 의해 손상을 받아 병적으로 변화되기 쉬운 부위로 알려져 있으며²⁾, 태아의 신경계 성장시기에 알코올 섭취는 뇌의 여러 부위에서 신경세포를 소실시킬 뿐 아니라³⁾ 뇌성장 발달과정에 투여된 에탄올(ethanol)은 뇌신경세포의 사멸성 신경퇴행(apoptotic neurodegeneration)을 유발시킨다고 보고되었다⁴⁾. 이러한 알코올의 작용은 몇가지 신경전달물질들과 관련이 있는 것으로 알려져 있으며, 특히 최근 연구에 의하면 산화질소(nitric oxide, NO)가 알코올에 의한 행동양상에 관여하는 것으로 알려졌다.

산화질소(nitric oxide, NO)는 신경계통 조직에서 신경전달물질, 신경조절물질 또는 이차전령물질(second messenger)로 작용하는 것으로 알려진 자유라디칼(free radical)이다. 과거에는 endothelium-derived relaxing factor(EDRF)로 알려졌지만 현재는 기체임이 확인되었다. NO는 중추신경계통, 말초신경계통, 심장혈관계통에서 작용을 나타낸다고 보고되어 왔다. NO의 형성은 흥분성 아미노산 수용체에 대한 자극과 관련이 있으며 일단 산화질

소가 생성되면 수용성 guanylate cyclase가 자극된다. 산화질소는 산화질소합성효소(nitric oxide synthase, NOS)에 의하여 arginine으로부터 합성되며 이때 NADH와 tetrahydrobiopterin이 조효소(coenzyme)로 작용하는 것으로 알려져 있다⁵⁾. Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase(NADPH-d)는 중추신경계에서 NOS 발현을 탐색하는 중요한 조직학적 지표이다. 여러 연구를 통해서 NADPH-d를 가지고 있는 신경들은 알코올 독성 및 신경퇴행성 질환 등에 비교적 저항성을 가지고 있는 것으로 보고하고 있다.

한의학에서는 음주로 인해 발생한 질환을 주상(酒傷)이라 하며 酒傷證에 대해 ‘靈樞·論勇篇’에서는 酒氣가 標悍한데 飲酒하면 氣가 上逆하여 胸中에 充滿하여 肝浮膽橫한다고 하였고, ‘素問·厥論篇’에서는 醉飽入房하면 氣가 胸中에 쌓여 흩어지지 않고 酒氣와 穀氣가 相搏하여 中焦盛熱하게 되므로 全身에 熱이 퍼지고 內熱이 생겨 尿赤한다고 하였다⁶⁾. 이후 張⁷⁾은 過飲으로 인한 黃疸를 酒疸로 기술하였고, 巢⁸⁾는 酒疸, 酒癖에 대해 언급하고 臟器의 虛實에 따른 변화를 관찰하였고, 李⁹⁾는 酒傷病에 대하여 無形之設을 주장하였고 治法은 發散汗出하고 다음으로 利小便하여 其濕을 上下로 分消하는 것을 原則으로 하였다. 본 실험에 사용되는 葛根은 酒傷을 치료하는 대표적인 약물로 이해되고

있다. 發散 汗出시키는 효과와 升陽解肌, 透疹止瀉, 除煩止渴하는 효능이 있다. 單味로도 解酒毒 하는 효능이 있으며, 주독을 풀고 숙취로 깨어나지 못할 때 치료하며, 身熱赤, 小便赤澀한 증상을 치료한다.

최근 한의학계에서 NOS와 관련된 연구가 시도되고 있으나, 갈근 약침이 알코올에 의해서 손상된 흰쥐 대뇌피질에서 NOS의 활성도에 미치는 영향에 대한 보고는 없었다. 이에 본 연구에서는 갈근 약침 자극이 알코올에 의한 뇌신경세포 손상기전에 있어 중추적 조절과 관련된 물질인 NO의 발현변화에 미치는 영향을 관찰하고자 인위적으로 알코올을 주입하여 알코올 독성을 유발시킨 Sprague Dawley(SD) 계 흰쥐에게 인체에 상응하는 중완혈에 갈근 약침 자극을 가한 후 NO의 합성효소인 NOS의 變化를 NADPH-d 조직화학 방법으로 관찰한 결과 약간의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료와 방법

1. 실험동물 및 재료

1) 실험동물

실험에 사용한 동물은 체중 200g 내외의 SD계 수컷 흰쥐를 한국화학연구소에서 공급받아 실험 당일까지 물과 일반 고형사료를 충분히 공급하면서, 실온 22±2℃를 유지하여 2주간 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

2) 약침액 제조

갈근(Puerariae radix) 100g을 粗末하여 원형 flask에 넣고 증류수 1000ml를 가하여 2시간 동안 열환류 추출하고 여과한 다음, 이 침전물을 3회 여별

(3M paper)한 후 rotary evaporator로 감압농축하였다.

2. 실험방법

1) 실험군 설정

(1) 정상군(Normal) : SD계 흰쥐 6마리를 1군으로 정상적으로 물과 사료를 공급한 군.

(2) 대조군(Control) : SD계 흰쥐 6마리를 1군으로 에탄올을 투여한 군

(3) 실험군 A(Sample A) : 대조군 흰쥐의 중완혈에 상응하는 혈위에 갈근약침(0.3mg/kg)을 투여한 군

(4) 실험군 B(Sample B) : 대조군 흰쥐의 중완혈에 상응하는 혈위에 갈근약침(3mg/kg)을 투여한 군

(5) 실험군 C(Sample C) : 대조군 흰쥐의 중완혈에 상응하는 혈위에 갈근약침(30mg/kg)을 투여한 군

(6) 실험군 D(Sample D) : 대조군 흰쥐의 중완혈에 상응하는 혈위에 갈근약침(300mg/kg)을 투여한 군

2) 에탄올 투여

흰쥐에게 2g/kg의 알코올 용량을 1일 2회, 3일간 복강에 주사하였다.

3) 약침 자극

갈근약침 자극은 인체의 중완혈에 상응하는 부위에 1일 1회 5일간 30mg/kg 용량으로 주사하였다.

4) 조직처리

모든 실험동물에게 pentobarbital sodium(60mg/kg)을 복강주사하여 마취시킨 후 흉강을 열고 좌심실을 통하여 0.05M 인산염완충식염수(phosphate buffered saline, PBS)를 1분간 주입하고, 0.1M 인산염완충액(phosphate buffer, PB)에 녹인 4% paraformaldehyde 용액(4℃)을 10분간 관류고정시켰다. 이때 관류속도는 50~60ml/min이 되도록 하였

다. 관류고정 후 뇌를 적출하여 4~6mm 두께로 관상 절개하여 동일한 고정액에 담가서 4℃에서 16~18 시간 동안 후고정한 다음, 0.1M PBS에 녹인 20% sucrose 용액에서 2~5일간 보관하였다.

Cryocut(Leica, Germany)을 이용하여 40 μ m 두께의 연속횡단절편을 제작하였고, 자른 조직은 매 5장마다 1장씩을 취하여 염색을 시행하였다.

5) 면역조직화학

NADPH-d 조직화학을 위하여 조직절편을 0.1% β -NADPH, 0.01% nitroblue tetrazolium (NBT), 0.3% Triton X-100을 0.1 M PB에 녹인 반응혼합액에 넣어 37℃ 수조에서 60분간 반응시켰다. 원하는 정도의 반응이 나타나면 조직을 PBS로 씻어서 더이상의 발색을 정지시켰다. 발색이 끝난 조직은 gelatin-coated slide에 얹어서 2시간 동안 실온에서 건조시킨 후 xylene으로 투명화시켜 polymount로 봉입하였다.

6) 항체 양성반응 세포수 측정

각각의 항체들과 면역반응이 일어난 세포들은 Zeiss현미경(Obercohen, Germany)을 이용하여 관찰하였고, 염색강도는 영상분석기(Multiscan, USA)의 densitometry를 이용하여 gray scale로 측정하였다. Average optical density(AOD)는 흰색을 0, 검은색을 255로 하여 염색된 조직은 그 사이의 값을 갖고, 이때는 광원의 밝기에 따라 AOD의 값이 달라지므로 광원을 고정시킨 후 측정하였다. 측정된 광원의 밝기는 광원의 밝기에 따라 염색된 전체 조직과 조직이 없는 부위를 각각 영상분석기로 측정하여 광원과 AOD 사이의 상관관계 standard curve를 얻은 후 가장 차이가 많이 나는 영역을 측정 광원으로 정하였다. 이때 각 실험군당 적어도 15개 영역 이상을 CCD camera를 통해 200X의 광학현미경에서온 영상을 받아 영상분석기로 측정하였다. 각 부위에서 세

부구조의 위치와 명칭은 Paxinos와 Watson의 부도를 참고하였다.

7) 통계처리

실험결과는 SPSS Window program(Ver. 7.5)을 이용하였으며, 모든 측정값은 평균값 \pm 표준오차(Mean \pm standard error)로 나타내었고, 유의성은 $p < 0.05$ 로 하였다. 각 실험군간의 통계학적 분석은 ANOVA와 Duncan test 검정을 실시하였다.

III. 결 과

1. CA1에서 NOS의 변화

Table 1. The number of NADPH-d-positive neurons in the CA1 of hippocampus of rats

Group	Number of rats	pre-approach	Duncan grouping
Normal	6	46.27 \pm 3.21 ¹⁾	A ²⁾
Control	6	26.50 \pm 1.88	B
Sample A	6	31.27 \pm 2.35	B
Sample B	6	41.40 \pm 1.69	A
Sample C	6	44.64 \pm 1.48	A
Sample D	6	41.31 \pm 1.42	A

1) Data are mean \pm Standard error mean

2) Normal : untreated group

Control : alcohol-treated group

Sample A : alcohol with 0.3mg/kg Puerariae radix herb-acupuncture treated group

Sample B : alcohol with 3mg/kg Puerariae radix herb-acupuncture treated group

Sample C : alcohol with 30mg/kg Puerariae radix herb-acupuncture treated group

Sample D : alcohol with 300mg/kg Puerariae radix herb-acupuncture treated group

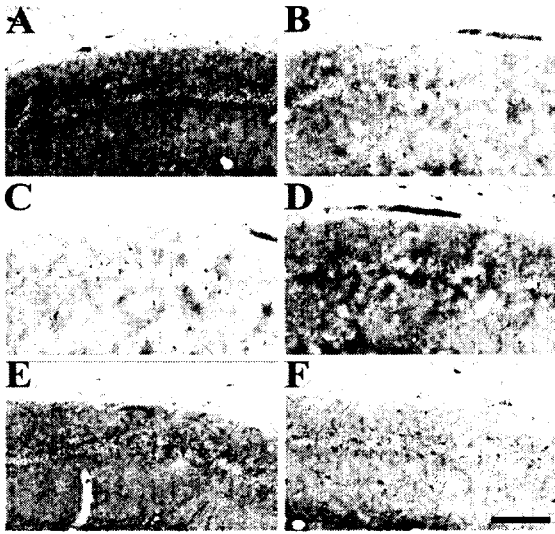


Fig. 1.

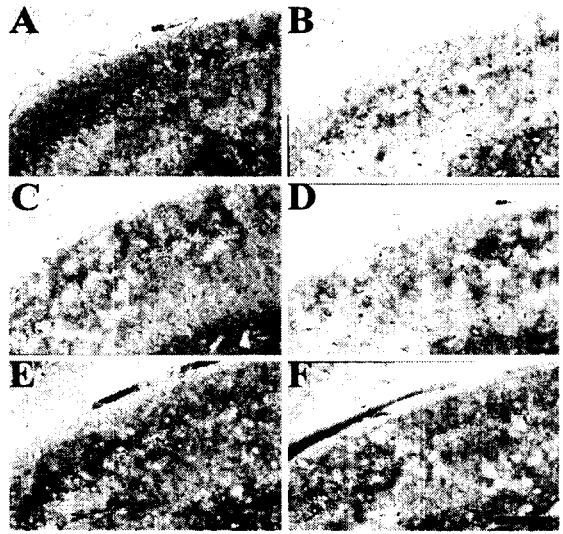


Fig. 2.

2. CA2-3에서 NOS의 변화

Table 2. The number of NADPH-d-positive neurons in the CA2 and CA3 of hippocampus of rats

Group	Number of rats	pre-approach	Duncan grouping
Normal	6	23.09±1.43 ¹⁾	A ²⁾
Control	6	12.70±1.13	B
Sample A	6	13.81±0.85	B
Sample B	6	19.10±1.30	C
Sample C	6	22.00±1.28	AC
Sample D	6	20.62±0.92	AC

1) Data are mean±Standard error mean

2) Normal : untreated group

Control : alcohol-treated group

Sample A : alcohol with 0.3mg/kg Puerariae radix herb-acupuncture treated group

Sample B : alcohol with 3mg/kg Puerariae radix herb-acupuncture treated group

Sample C : alcohol with 30mg/kg Puerariae radix herb-acupuncture treated group

Sample D : alcohol with 300mg/kg Puerariae radix herb-acupuncture treated group

3. Dentate gyrus에서 NOS의 변화

Table 3. The number of NADPH-d-positive neurons in the dentate of hippocampus of rats

Group	Number of rats	pre-approach	Duncan grouping
Normal	6	38.30±2.58 ¹⁾	AE ²⁾
Control	6	25.20±1.18	B
Sample A	6	30.40±2.19	BC
Sample B	6	41.87±1.87	AD
Sample C	6	46.91±1.59	D
Sample D	6	34.50±1.84	CE

1) Data are mean±Standard error mean

2) Normal : untreated group

Control : alcohol-treated group

Sample A : alcohol with 0.3mg/kg Puerariae radix herb-acupuncture treated group

Sample B : alcohol with 3mg/kg Puerariae radix herb-acupuncture treated group

Sample C : alcohol with 30mg/kg Puerariae radix herb-acupuncture treated group

Sample D : alcohol with 300mg/kg Puerariae radix herb-acupuncture treated group

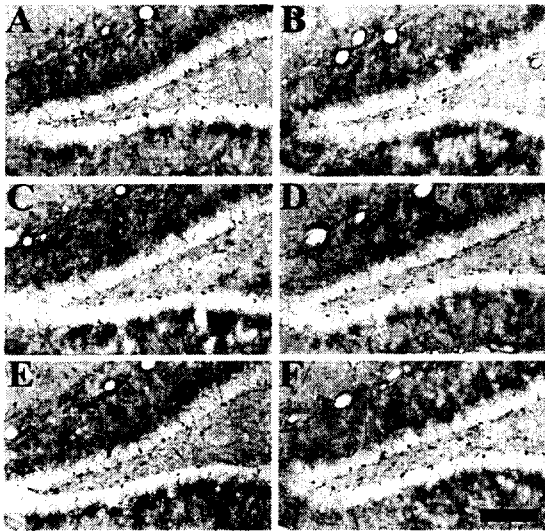


Fig. 3.

IV. 고찰

알코올성 질환의 발견이 늘어감에 따라 알코올성 질환에 대한 한방 치료법에도 사회적 관심이 높아지고 이에 따라 실험적인 연구도 많아졌지만, 구체적인 대사에 관한 연구나 한약물의 작용기전에 관한 연구는 미미한 실정이다. 특히 단미에 관한 연구는 빈약한 실정이지만 최근에 酒傷證에 解酒毒시키는 대표적 약물로서 葛根, 葛花 및 茵陳 등을 연구하는 보고가 있어 왔다¹⁰⁻¹³. 內經 《靈樞 論勇篇》에서 酒氣가 標悍한데 飲酒하면 氣가 上逆하고 胸中에 充滿하여 肝浮膽橫한다고 하고 《素問 厥論》에서 醉飽入房하면 氣가 胸中에 쌓여 酒氣와 穀氣가 相搏하고 中焦에 熱이 盛하므로 전신에 熱이 퍼지고 內熱이 생겨 尿赤한다고 하여 이미 酒傷에 대한 병리론적 언급이 있었다⁶. 酒傷의 치료는 李¹⁴가 發汗 利小便하여 濕毒을 上下로 分消하는 것을 원칙으로 삼은 후, 많은 醫家들이 치법을 따랐다.

葛根은 發汗利小便시키는 대표약물로 성미는 달고 서늘하며 平하다. 解酒醒脾하는 효능이 있어 酒傷으로 열이 나고 가슴이 답답하며 갈증이 나는 증상, 酒癩, 食欲不振, 胸膈飽脹, 딸꾹질, 신물과 가래를 吐하는 증상, 酒毒傷胃, 吐血, 嘔血을 치료하고 열을 내린다.

NO는 자유롭게 확산하는 가스로서 신경계, 혈관계 및 면역계에서 세포사이의 작용을 매개하는 메신저 물질로 중요한 역할을 한다¹⁵. 1990년 초에 동물 세포에서 세포간의 메신저로서 생성된다는 것을 발견하였고 혈압, platelet adhesion, neutrophil의 집성뿐만 아니라 뇌에서 synaptic plasticity의 역할과 관련이 있을 것으로 보고되어졌다¹⁶. 즉 NO는 혈소판내에서 혈소판의 응집을 억제하며 대식세포에서 세포독성을 매개하는 작용을 하며 일부 인체조직에서는 혈관확장을 매개하는 물질로도 알려져 있다. 혈관확장을 매개하는 물질로서 뇌 조직에서는 확인되지 않았으나 대뇌혈류순환은 NO에 의해 조절되며 NO는 내피세포 뿐만 아니라 혈관주위 신경섬유에서 나오는 것으로 확인되었다. 또한 신경계에서 NO는 장기기억의 역행성 전도물질로 작용할 것으로 생각되며 NO가 과도 생성될 경우에는 신경독소로 작용한다고 알려져 있다¹⁷.

NOS는 NO를 만드는 효소로서 그 작용에 대한 것은 확실히 알려진 바가 없다. 1981년 이전까지 NO의 생성은 특정한 세균의 질소화 과정에서 발생되는 것으로 생각되었으나 Moncada¹⁸ 등은 NO가 L-arginine의 guanidino nitrogen으로부터 NOS에 의하여 생성된다는 사실을 밝혔다.

NOS를 갖고 있는 신경세포를 조직학적으로 관찰하는 방법으로 NADPH-d 조직화학을 사용하는데 이 방법은 NOS가 nitroblue tetrazolium(NBT)을 물에 녹지 않는 NBT formazan으로 환원시키는 NADPH-d 활성작용이 있다는 원리를 이용한 방법이다. 이 작용에는 꼭 NADPH가 필요하며 NOS는 NA

DPH를 전자 공여자로 필요로 한다. NADPH-d 활성은 NOS 없이도 부신피질과 신장에서 나타날 수 있지만, 대뇌피질과 선조체에 분포하는 NADPH-d 함유 신경원은 NOS와 일치하는 것으로 알려졌다^{19,20}. 즉 NO를 만드는 효소인 NOS를 함유한 신경세포는 NADPH-d 조직화학을 통하여 염색할 수 있으며 NOS의 효소활성은 NADPH-d 활성도와 비례한다는 보고²¹)가 있어 본 실험에서 NADPH-d의 활성도를 측정하였다.

주산기 중추신경계의 저산소증 및 허혈성 손상은 뇌성마비, 지능장애 그리고 학습장애 등과 같은 만성적인 중추신경계 질환을 발생시키는 것과 관련이 있으며, 알코올은 중추신경계를 손상시킬 뿐 아니라 영아기의 고농도 알코올 노출은 뇌의 중량을 감소시키고 중추신경세포를 손상시킬 수 있다고 보고되었다²²). 최근 알코올은 뇌 신경세포를 사멸시키며, 뇌 성장 발달과정에 투여된 에탄올은 뇌 신경세포의 사멸성 신경퇴행을 유발시킨다고 하였다⁴). 그리고 Gruol 등²³)은 신생아시 알코올에 노출되면 소뇌 과립세포에서 NMDA를 감소시킨다고 보고하였다. Bonthius²)와 West²²)는 흰쥐를 선택하여 뇌가 급속히 성장하는 생후 4~9일 동안 매일 하루에 4회나 2회 걸쳐 4.5g/kg 용량의 알코올을 투여시킨 집단과 6.6g/kg의 알코올을 투여시킨 두 집단을 비교한 결과, 매일 저용량의 알코올(4.5g/kg)을 투여시켰던 흰쥐가 고용량의 알코올(6.6g/kg)을 투여시켰던 흰쥐보다 오히려 뇌 중량을 더욱 감소시켰고 뇌 신경세포도 손상시켰다고 보고하였다. 또한 Bonthius²)는 생후 4~10일에 해당되는 흰쥐에게 12번 식사 중 매일 4회에 걸쳐 또는 2회에 걸쳐 저용량의 알코올 농도(4.5g/kg)을 투여시킨 후 평균 혈중 알코올 농도를 측정된 결과 알코올 농도가 190.7mg/dl로 나타났으며 해마의 CA1 피라미드 신경세포를 손상시킨다고 보고하였다.

본 연구에서는 급성 알코올 중독을 유발시키기 위

하여 어린 흰쥐에게 2g/kg의 알코올 용량을 하루 2회 3일간 복강에 주사하였으며, 3일째 알코올을 투여시킨 후 1시간이 지난 뒤 일부 흰쥐에게서 심장 천자로 혈액을 채취하였다. 알코올을 투여하지 않은 대조군과 알코올을 투여한 알코올군의 혈중 알코올 농도를 alcohol diagnostic kit (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 이용하여 측정된 결과, 대조군이 0.48 mg/dl, 알코올군이 156.0mg/dl로 나타났다. 혈중 알코올 농도에 따라 차이는 있겠지만 급성이나 만성적인 알코올 중독은 특히 발생시기의 뇌 형성과 뇌 신경세포의 발생 및 신경가역성 등에 부정적인 영향을 미쳐 중추신경계를 손상시킬 수 있으리라고 생각된다.

설치류에서 출생 후 일생동안 해마 형성체에 있는 주된 신경세포 집단 중 치상회 과립세포에서 신경생성은 계속해서 이루어지고 있으며²⁴), 성숙 쥐에서 신경전구세포는 치상회의 과립세포하 영역에 존재하며, 지속적으로 과립세포층으로 이동하여 신경세포로 분화되며, 축삭을 내어 다른 신경세포와 시냅스를 이루어 신경세포를 생성시킨다고 보고되었다. 또한 새로이 생성된 신경세포 생존은 복잡한 환경에 의해 조절되며, 신경세포 생성은 사회적, 신체적 활동에 의하여 조절될 수 있다는 가능성이 제시되었다²⁵).

본 연구에서, 급성 알코올 중독을 유발시킨 알코올군을 단순 알코올군과 중완혈 약침자침을 시행한 군으로 분류하여 신경세포 생성을 알아본 결과, 단순 알코올군에 비해서 약침을 시행한 군이 해마에서 NOS 발현을 의미 있게 증가시켰다. 한편 급성 알코올 중독을 일으킨 알코올군의 NOS 발현은 정상 흰쥐의 대조군보다 억제된 것으로 나타나 급성 알코올 중독이 뇌 손상을 유발시켰을 것으로 추측된다. 따라서 급성 알코올 중독을 유발시킨 흰쥐에서 약침자침을 시행한 군이 해마에서 NOS 발현을 의미 있게 증식시키는 것으로 나타났는데, 이러한 결과는 알코올에 의해서 유발된 중추신경계 질환으로 치료를 받는

환자에게 한의학적인 약침요법이 뇌 신경세포를 생성시키는 적용양식으로 사용할 수 있을 것으로 생각한다. 이러한 근거는 새로운 신경세포가 증식되면 일부는 생존하고 일부는 죽게 되지만 대부분은 이동 후 세포로 분화된다는 보고들과 침자극에 의해서 뇌의 구조적 변화가 생겼다는 보고들이 뒷받침 해주고 있다²⁵⁾.

신경가역성은 주기적으로 변화는 것이 아니라 신경계에 몇 초 이상의 시간동안 변화되는 능력이다. 그러므로 신경가역성이란 신경세포가 일평생동안 주어지는 자극에 변화할 수 있는 능력을 말하는 것이다. 이들 변화는 습관화, 감각, 조건반사, 학습과 기억 그리고 손상으로부터의 회복기전이다. 따라서 정상적인 뇌나 알코올이나 허혈 등으로 생긴 뇌 손상을 지속적이고 효과적인 한방치료를 수행할 수 있다면 신경가역성으로 인하여 뇌 신경세포는 생성되고 궁극적으로는 신체기능은 회복될 것으로 생각된다. 이상의 결과를 종합하면, 알코올 중독시 갈화 약침자극은 알코올에 의해서 손상된 NOS 신경세포 발현을 증가시키는 것으로 보아 갈화 약침이 해마에서 신경세포 보호에 관여하는 것을 알 수 있다. 이러한 결과를 바탕으로, 여러가지 한방치료요법을 이용하여 뇌 신경세포 생성을 활성화시키며, 뇌기능 회복에 긍정적인 영향을 미치는 적용방법들을 개발해야 할 것으로 사려된다.

V. 결 론

葛根 藥鍼이 에탄올 중독 흰쥐의 해마에서 NOS 발현에 미치는 영향을 알아보기 위하여 면역조직화학을 통한 해마의 CA1, CA2-3, dentate gyrus 영역의 c-fos-positive neuron을 측정 한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. CA1 영역에서 葛根藥鍼을 투여한 실험군 모두 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다.
2. CA2-3 영역에서 葛根藥鍼을 투여한 실험군 모두 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다.
3. Dentate gyrus 영역에서 葛根藥鍼을 투여한 실험군 모두 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다.

이상의 결과를 바탕으로 실험동물에 에탄올을 투여시 해마의 각 영역에서 NOS의 발현성이 정상군보다 모두 억제됨을 알 수 있었다. 그러나, 葛根 藥鍼을 병용하여 투여한 경우에는 대조군보다 실험군이 해마에서 NOS 발현을 의미있게 증가시켰다. 이로써, 에탄올 중독으로 유발된 학습 능력과 기억 능력의 저하를 방어하는데 葛根 藥鍼이 유효한 영향을 미칠 것으로 사려된다.

IV. 참고문헌

1. Pierce DR, Goodlett CR, West JR. Differential neuronal loss following early post-natal alcohol exposure. *Tetatology*. 1989 ; 40 : 113-126.
2. Bonthius DJ, Woodhouse J, Bonthius NE, Taggard DA, Lothman EW. Reduced seizure threshold and hippocampal cell loss in rats exposed to alcohol during the brain growth spurt. *Alcohol Clinical Experience Research*. 2001 ; 25(1) : 70-82.
3. Jones KL, Smith DW. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet*. 1973 ; 2 : 999-1001.

4. Ikonomidou C, Bittigau P, Ishimaru MJ, Wozniak DF, Koch C, Genz K, Price MT, Strfovska V, Horster F, Tenkova T, Di-kranian K, Olney JW. Ethanol-induced apoptotic neurodegeneration and fetal alcohol syndrome. *Science*. 2000 ; 287 : 1056-1060.
5. Holz RW, Fisher SK. Synaptic Transmission and cellular signalling : an overview. In : Iegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD, eds. *Basic Neurochemistry*. Philadelphia : Lippincott-Raven. 1999 : 210-1.
6. 王冰 註. 黃帝內經. 서울 : 高文社. 1971 : 31, 141, 329.
7. 張仲景. 金匱要略. 서울 : 成輔社. 1985 : 74-120.
8. 巢元方. 巢氏諸病源候論. 臺中 : 國際書局. 1976 ; 12 : 7, 20 : 13.
9. 李東垣. 東垣十種醫書. 서울 : 大星文化社. 1983 : 56-491.
10. 김연희, 김이화, 장미현, 임백빈, 김연정, 정주호, 서정철, 김창주. 갈화 약침이 알콜 중독 환경의 치상회에서 신경세포 생성에 미치는 영향. *대한침구학회지*. 2001 ; 18(6) : 206-214.
11. 구교성, 조선혜, 장미현, 김창주, 김이화, 이충열. Protective effect of Puerariae radix against ethanol-induced apoptosis on human neuroblastoma cell line SK-N-MC. *동의생리병리학회지*. 2002 ; 16(3) : 602-608.
12. Jang MH, Shin MC, Kim YJ, Chung JH, Yim SV, Kim EH, Kim Y, Kim CJ. Protective effects of Puerariae flos against ethanol-induced apoptosis on human neuroblastoma cell line SK-N-MC. *Japanese Journal of Pharmacology*. 2001 ; 87 : 338-342.
13. Jang MH, Shin MC, Lee TH, Bahn GH, Shin HS, Lim SBN, Kim EH, Kim CJ. Effect of Puerariae radix on c-Fos expression in hippocampus alcohol-intoxicated juvenile rats. *Biological Pharmaceutical Bulletin*. 2003 ; 26 : 37-40.
14. 李時珍. 圖解 本草綱目. 서울 : 高文社. 1983 : 1055-6.
15. Giatgen A. The Dual Role of Nitric Oxide in Islet β -Cell. *New Physiol Sci*. 1999 ; 14 : 49-53.
16. Feldman PL, Griffith OW, Sheuhr DJ. The surprising life of nitric oxide. *Chem Eng News*. 1993 : 26-38.
17. Koh JY, Choi DW. Vulnerability of cultured cortical neurons to damage by endotoxins, Differential susceptibility of neurons containing NADPH-diaphorase. *J Neurosci*. 1993 ; 8 : 2153-63.
18. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric Oxide, Physiology. *Phathology and Pharmacol Rev*. 1991 ; 43 : 109-42.
19. Dawson TM, Bredt DS, Fotuhi M, Hwang PM, Snyder SH. Nitric oxide synthase and neuronal NADPH diaphorase are identical in brain and peripheral tissues. *Proc Natl Acad Sci*. 1991 ; 88 : 7797-801.
20. Hope BT, Michael GJ, Knigge KM, Vincent SR. Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci*. 1991 ; 88 : 2811-4.
21. Bicker G. NO News from insect brains.

- Trends Neurosci. 1998 ; 21 : 349-55.
22. West JR, Goodlett CR, Bonthius DJ, Pierce DR. Manipulating peak blood alcohol concentrations in neonatal rats : review of an animal model for alcohol-related developmental effects. Neurotoxicology. 1989 ; 10(3) : 347-65.
23. Gruol DL, Ryabinin, AE, Parsons KL, Cole M, Wilson MC, Qiu Z. Neonatal alcohol exposure reduces NMDA induced Ca^{+2} signal in developing cerebellar granule neurons. Brain Res. 1998 ; 793 : 12-20.
24. Altman J, Das GD. Autoradiographic and histological evidence of postnatal neurogenesis in rats. J Comp Neurol. 1965 ; 124 : 319-35.
25. Kim EH, Kim YJ, Lee HJ, Huh Y, Chung JH, Seo JC, Kang JE, Yim SV, Kim CJ. Acupuncture increases cell proliferation in dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils. 2001 ; 297 : 21-4.