

# 神門穴 鍼刺戟이 母性分離 흰쥐의 大腦 邊緣系의 c-Fos 發顯에 미치는 影響

임사비나<sup>1</sup> · 황세희<sup>1</sup> · 류연희<sup>1</sup> · 이해정<sup>2</sup> · 박희준<sup>1</sup>

<sup>1</sup>경희대학교 한의과대학 경혈학교실, <sup>2</sup>경희대학교 동서의학대학원 한의과학과

## Effects of HT7 Acupuncture on c-Fos Expression in Limbic System of the Brain in Maternally-Separated Rats.

Sabina Lim<sup>1</sup>, Se-Hee Hwang<sup>1</sup>, Yeun-Hee Ryu<sup>1</sup>, Hye-Jung Lee<sup>2</sup>, Hi-Joon Park<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, KyungHee University

<sup>2</sup>Dept. of Oriental Medical Science, Graduate School of East-West Medical Science, KyungHee University

### Abstract

Acupuncture has been shown to have therapeutic effects on many mental disorders such as depression, anxiety, and substance abuse in human and animal studies. Maternal separation (MS) is a risk factor in the development of mood-related disorders such as depression. This study investigated the effects of acupuncture during MS by evaluating locomotion as behavioral markers of depression and by observing changes in c-Fos expression in the limbic system (hippocampus, amygdala and cingulate cortex) to elucidate the mechanism of the therapeutic effect. The employed acupoint, Shinmun (HT7), has been clinically used to treat mental disorders. MS for 7 days beginning on postnatal day 14 induced a significant decrease in locomotion, while acupuncture treatment at acupoint HT7 resulted in a significant increase in locomotion. c-Fos immunoreactive cells in area dentate gyrus (DG) of the hippocampus were increased in the MS group, but significantly decreased in the acupuncture group. These findings suggest that acupuncture has an effect on the depression-like disorder caused by MS, possibly by modulating c-Fos expression in DG of the hippocampus.

**Key words** : Acupuncture, Shinmun, Maternal Separation, c-Fos, Hippocampus

### I. 緒 論

鍼은 經絡 또는 臟腑의 병변에 대해 적합한 穴位에 刺鍼하여 氣血 활동을 조절함으로써 臟腑 氣血의 有餘 및 不足의 불균형 상태를 정상으로 회복시키는 자극요법으로 오래 전부터 여

러 질환의 치료에 사용되어 왔으며, 우울증, 불안, 불면증, 정신신경증, 약물남용과 같은 정신과 영역의 질환에서도 치료 효과가 인정되고 있다.

정신과 질환에 대한 침의 기전 연구로는 스트레스와 관련한 각종 실험에서 스트레스로 인한 행동을 억제하는 항불안 효과<sup>1)</sup>와 혈압 및 심박동수 증가 억제<sup>2)</sup>, 각종 스트레스 관련 호르몬에 미치는 영향 등이 보고되었다. 최근에는 침 자극이 뇌에 미치는 영향에 대한 연구가 활발해져

• 교신저자: 박희준, 서울시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 한의과대학 경혈학교실, Tel. 82-2-961-9435, Fax. 82-2-961-7831, E-mail : acufind@khu.ac.kr

\* 본 연구는 한국학술진흥재단 지원에 의하여 수행되었음.  
(KRF-2002-003-E00189).

• 접수 : 2004/05/31 · 수정 : 2004/06/15 · 채택 : 2004/09/17

전침자극이 대뇌 혈류량을 증가시킴으로써 serotonin 방출량을 증가시켜 스트레스와 관련된 정신장애에 효과가 있다는 연구결과가 보고 되었으며<sup>3)</sup>, 침자극의 고정 스트레스로 인한 hippocampus의 BDNF (brain-derived neurotrophic factor) mRNA의 감소 억제<sup>4)</sup>, 모성분리 흰쥐 hippocampus의 세포증식 감소의 억제<sup>5)</sup>, 구속 스트레스에 의한 PVN(paraventricular hypothalamic nucleus), SCN(suprachiasmatic nucleus), LS(lateral septum) 및 LC(locus ceruleus)의 c-Fos 발현 억제 등이 보고되었다.

정신과 영역의 대표적 질환인 우울증에 대한 연구도 활발히 진행되어 침과 항우울제의 비교 연구에서 mianserin 투여와 자침의 병행은 mianserin의 단독투여시보다 우울증을 개선시킨다는 결과<sup>6)</sup>와, 전침자극이 amitriptyline과 같은 정도의 치료효과를 보이며 부작용은 amitriptyline에 비해 적다는 결과<sup>7)</sup>가 보고되었다. SSRI (selective serotonin reuptake inhibitor)를 비롯한 많은 항우울제의 표적부위로 알려진 hippocampus를 포함하는 변연계는 우울증의 병리에 관계되어 있고, '감정의 뇌'라고 불리우며, 구속, 공포와 새로운 환경에의 노출 같은 스트레스의 작용과정에 관여한다<sup>8)</sup>. 저자는 침자극 또한 변연계에 영향을 미침으로써 우울증 치료 효과를 가진다는 가정하에 침자극의 기전을 규명함으로써 우울증의 침치료에 대한 과학적 근거를 마련하고자 한다.

이에 저자는 手少陰心經의 原穴로서 鎮靜安神 효능을 가진 神門穴의 침자극이 모성분리 스트레스를 가하여 우울증을 유도한 흰쥐의 행동적 변화에 미치는 영향을 관찰하고, 스트레스 반응시의 신경활성의 대표적 표지자인 c-Fos를 이용하여 변연계에 미치는 영향을 관찰하였던바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 實 驗

### 1. 實驗動物

실험동물로는 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였다. 암수 한 쌍씩 자유롭게 먹이와 물을 섭취하게 하였으며, 실험실 환경은 실내온도 24-26℃, 주야주기는 12/12 hr로 유지하였다. 암컷의 임신이 확인되면 수컷을 다른 곳으로 옮기고 출산할 때까지 관찰하였다.

### 2. 實驗群 設定 및 處置

#### 1) 實驗群의 設定

출산 후 새끼 쥐가 눈을 떠서 독립적으로 생존할 수 있는 시점인 생후14일부터 실험군을 아래와 같이 배정하여 실험에 임하였다.

① Nor (normal) : 어미와 같이 두고 모성을 박탈하지 않은 정상군 (n=8)으로 모성분리에 대한 통제군으로 사용되었다.

② MS (control) : 어미로부터 분리시킨 모성분리군 (n=10)으로 침자극을 받지 않는 대조군으로 사용되었다.

③ MS+HT7 (acupuncture) : 모성분리+신문혈 자침군 (n=10)으로 모성분리 처치를 받는 동안 신문혈에 침자극을 받는 실험군으로 사용되었다.

#### 2) 刺鍼穴位 및 刺鍼方法

경혈은 한의학에서 정신적 불균형을 조절하는데 사용되어 온 신문혈 (HT7)을 선정하였다. 신문혈은 전지 (forelimb)의 완관절 횡문상에서 척골측의 척측수근굴근육 (flexor carpi ulnaris m.) 내단의 장측수근인대 (lig. carpi volare)와 단장근근육 (palmaris brevis m.) 사이에서 인체의 부위와 상응하는 곳에 취혈하였으며, 7일 동안 매일 오전 10시에 반복적으로 자침하였다.

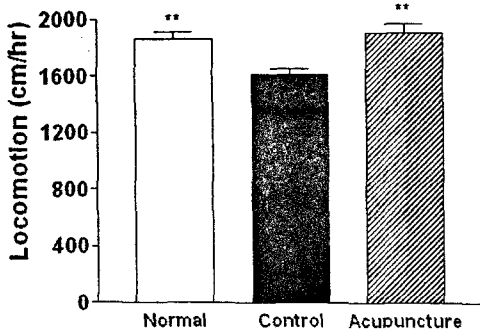


Fig. 1. Effect of acupuncture on locomotor activity for 1 hour in stabilimeter (60×60×30cm) in continuous maternal care group, maternal separation group and maternal separation with acupuncture group on postnatal day 21.

All data are presented as mean ± standard error.

\*\**P*<0.01 compared with control group.

Normal : continuous maternal care group

Control : maternal separation group

Acupuncture : maternal separation group with acupuncture at Shinmun

스트레스를 최소화하기 위해 가볍게 손으로 움직이지 못하게 한후, 깊이 3mm, 2 Hz의 속도로 염전자극하며 30초 동안 좌우 해당 혈위에 각각 자침하였다. 자침 하지 않는 군 (Nor, MS)도 30초 동안 가볍게 움직이지 못하게 하여 침 자극 군과 같은 구속 스트레스를 주었다.

### 3. 實驗方法

#### 1) 운동 활동성의 측정

1주간의 모성분리 스트레스 및 자침 처치후인 생후 21일에 stabilimeter (60×60×30 cm)에서 운동활동성을 측정하였다. 각 실험군의 흰쥐를 stabilimeter에 넣고 컴퓨터와 연결된 CCD 카메라를 이용하여 흰쥐 전체 몸의 움직임을 감지할 수 있도록 조정한 뒤, S-MART program (Panlab, Spain)을 이용하여 1시간 동안 움직인 거리를 측정하였다.

#### 2) 관류고정

운동 활동성 측정후, 실험동물을 깊게 마취시킨 다음 0.05M phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4)으로 심장을 통해 혈액을 빼낸 뒤, 4℃ 0.1 M phosphate buffer에 녹인 4% paraformaldehyde (PFA, pH 7.4)로 관류 고정 한 뒤 뇌를 적출하였다. 적출한 뇌를 PFA에 담가 2일 동안 후고정 한 뒤, freezing microtome (Shandon, England)을 사용하여 40µm 두께로 절편 하였다.

#### 3) c-Fos 면역조직 화학염색법

절편한 뇌조직을 50mM의 PBS에 두 번 세척한 후 0.2% Triton X-100에 30분 동안 삼투시켰다. 다시 PBS로 두 번 씻은 후, 조직을 1:20000으로 희석된 rabbit anti-Fos antibody (Oncogene, USA)에 담가 하룻밤동안 반응시켰다. PBS로 두 번 씻은 후에 다시 biotinylated anti-rabbit antibody(1:200)에 한 시간 동안 반응시키고, vector Elite ABC kit (Vector Laboratories, Burlingame, CA)를 이용하여 증폭시킨 뒤, Antibody -biotin-avidin-peroxidase 복합체를 0.05% diaminobenzidine을 이용하여 발색시켰다. 발색이 끝난 조직들을 gelatin이 도포된 슬라이드 글라스에 고정시키고 공기 중에서 건조시킨 뒤 탈수시키고 커버글라스를 씌워 분석에 사용하였다.

각 실험군의 뇌절편에서 대뇌 변연계에 해당하는 hippocampus, amygdala, cingulate cortex를 각각 4장씩 선택하여 컴퓨터에 연결된 CCD camera (CoolSNAP)가 장착된 광학현미경(Olympus, Japan)으로 뇌 절편의 영상을 저장하고, 이미지 분석 프로그램(Optimas, version 6.5, Media cybernetics, MD)을 이용하여 단위 면적당 c-Fos가 발현된 신경세포의 개수를

Group	Cases(n)	Locomotor activity (cm/h)
Normal	8	1874.6±47.3**
Control	10	1617.4±44.1
Acupuncture	10	1916.7±68.6**

Table 1. Effect of acupuncture on locomotor activity for 1 hour in stabilimeter (60×60×30cm) in continuous maternal care group, maternal separation group and maternal separation with acupuncture group on postnatal day 21. All data are presented as mean ± standard error.

\*\* , P<0.01 compared with control group.

Normal : continuous maternal care group

Control : maternal separation group

Acupuncture : maternal separation group with acupuncture at Shinmun

세어 발현정도에 대한 지표로 삼았다. 대뇌 각 부위와 명칭은 Paxinos & Watson의 뇌 지도를 참고하였다<sup>9)</sup>.

#### 4. 통계방법

모든 data는 평균±표준오차 (Mean ± standard error mean)로 나타내었으며, ANOVA로 통계검정한 뒤 Newman-Keuls 방법을 사용하여 사후 분석하였다.

### Ⅲ. 成 績

#### 1. 운동활동성의 측정

1주간의 모성분리 스트레스 및 신문 자침 처치후인 생후 21일째에 stabilimeter (60×60×30 cm)에서 1시간 동안 각 집단의 흰쥐가 움직인 거리를 측정된 결과 각 집단은 운동 활동성에서 차이를 보였다. 정상군 (Normal)은 1874.6±47.3 cm를 움직였으며, 어미로부터 분리시킨 대조군

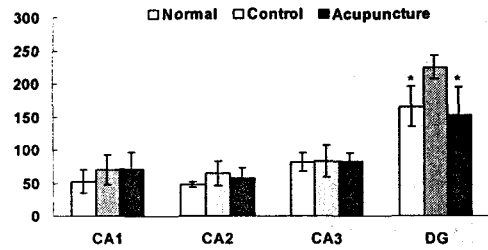


Fig. 2. Quantitative analysis of the number of c-Fos positive cells per mm<sup>2</sup> in areas CA1, CA2, CA3 and DG of the hippocampus in continuous maternal care group, maternal separation group and maternal separation with acupuncture group. All data are presented as mean ± standard error.

\*, P<0.05 compared with control group.

Normal : continuous maternal care group

Control : maternal separation group

Acupuncture : maternal separation group with acupuncture at Shinmun

(Control)은 1617.4±44.1cm를 움직여 정상군에 비해 활동성의 감소를 보였고 (P<0.01), 신문 자침군 (Acupuncture)은 1916.7±68.6cm를 움직여 운동 활동성의 증가를 보였다. (P<0.01) (Table I, Fig. 2)

#### 2. Hippocampus의 c-Fos 면역조직 화학염색 결과

c-Fos에 면역반응된 신경세포들은 발색제인 diaminobenzidine에 의해 갈색으로 나타났으며, DG에 많이 분포하였다. 이미지 분석 프로그램 (CoolSNAP)으로 세포수를 측정된 결과 모성분리 스트레스를 가한 대조군의 CA1, CA2, DG에서 c-Fos발현이 정상군보다 증가한 수치를 보였으며, 신문자침군의 CA2, DG에서의 c-Fos 발현은 대조군보다 감소한 수치를 보였다. CA1에서의 면역반응 신경세포는 정상군 52.6±17.3 (Mean±Standard Error)개, 대조군 70.0±22.3개, 실험군 71.3±26.2개였으며, CA2에서는 정상

Group	Cases (n)	Region of Hippocampus			
		CA1	CA2	CA3	DG
Normal	8	52.6±17.3	47.9±4.3	81.6±13.6	165.3±30.3*
Control	10	70.0±22.3	64.8±17.7	83.1±24.3	224.5±17.4
Acupuncture	10	71.3±26.2	57.1±15.8	82.4±12.9	152.0±42.5*

Table II. The number of c-Fos positive cells per mm<sup>2</sup> in areas CA1, CA2, CA3 and DG of the hippocampus in continuous maternal care group, maternal separation group and maternal separation with acupuncture group. All data are presented as mean ± standard error. \*, P<0.05 compared with control group. Normal : continuous maternal care group Control : maternal separation group Acupuncture : maternal separation group with acupuncture at Shinmun

군 47.9±4.3개, 대조군 64.8±17.7개, 실험군 57.1±15.8개였으며, CA3에서는 정상군 81.6±13.6개, 대조군 83.1±24.3개, 실험군 82.4±12.9개였으며, DG에서는 정상군 165.3±30.3개, 대조군 224.5±17.4개, 실험군 152.0±42.5개로 측정되었다. 정상군과 실험군의 c-Fos 면역반응 세포수를 대조군과 비교한 결과 CA1에서 대조군은 정상군에 비해 c-Fos 면역반응 세포수가 증가하였으며 실험군은 대조군에 비해 감소한 양상을 보였으나 이는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았고, DG에서만 정상군과 실험군이 대조군에 비해 c-Fos 발현이 유의하게 낮았다. (P<0.05) (Table II, Fig. 2)

### 3. Amygdala의 c-Fos 면역조직 화학염색 결과

c-Fos에 면역반응된 신경세포들은 발색제인 diaminobenzidine에 의해 갈색으로 나타났다.

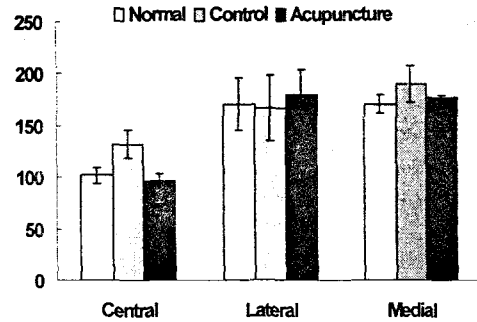


Fig. 3. Quantitative analysis of the number of c-Fos positive cells per mm<sup>2</sup> in Amygdala in continuous maternal care group, maternal separation group and maternal separation with acupuncture group. All data are presented as mean ± standard error. Normal : continuous maternal care group Control : maternal separation group Acupuncture : maternal separation group with acupuncture at Shinmun

이미지 분석 프로그램(CoolSNAP)으로 세포수를 측정된 결과 Central part에서의 면역반응 신경세포는 정상군 102.1±7.5(Mean±Standard Error)개, 대조군 132.4±13.6개, 실험군 96.3±7.7개, Lateral part에서는 정상군 170.3±25.6개, 대조군 166.1±32.2개, 실험군 179.0±24.8개였으며, Medial part에서는 정상군 169.9±8.8개, 대조군 189.6±17.6개, 실험군 177.4±2.3개로 측정되었다. Central part와 Medial part에서 모성분리에 의한 c-Fos 발현증가와 신문자침의 c-Fos 발현 억제에 대한 경향은 나타났으나 집단간에 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다. (Table III, Fig. 3)

### 4. Cingulate cortex의 c-Fos 면역조직 화학염색 결과

c-Fos에 면역반응된 신경세포들은 발색제인 diaminobenzidine에 의해 갈색으로 나타났다.

Group	Cases (n)	Region of Amygdala		
		Central	Lateral	Medial
Normal	8	102.1±7.5	170.3±25.6	169.9±8.8
Control	10	132.4±13.6	166.1±32.2	189.6±17.6
Acupuncture	10	96.3±7.7	179.0±24.8	177.4±2.3

Table III. The number of c-Fos positive cells per mm<sup>2</sup> in Amygdala in continuous maternal care group, maternal separation group and maternal separation with acupuncture group.

All data are presented as mean ± standard error.

Normal : continuous maternal care group

Control : maternal separation group

Acupuncture : maternal separation group with acupuncture at Shinmun

Group	Cases (n)	Cingulate cortex
Normal	8	236.5±27.0
Control	10	273.5±40.5
Acupuncture	10	269.6±8.8

Table IV. The number of c-Fos positive cells per mm<sup>2</sup> in Cingulate cortex in continuous maternal care group, maternal separation group and maternal separation with acupuncture group.

All data are presented as mean ± standard error.

Normal : continuous maternal care group

Control : maternal separation group

Acupuncture : maternal separation group with acupuncture at Shinmun

이미지 분석 프로그램 (CoolSNAP)으로 면역반응 세포수를 측정된 결과 정상군 236.5±27.0 (Mean±Standard Error)개, 대조군 273.5±40.5개, 실험군 269.6±8.8개로 측정되었다. 모성분리 스트레스를 받은 대조군이 정상군에 비해 c-Fos 발현이 증가한 수치를 보였으나 신문자침에 의한 c-Fos 발현 억제 효과는 나타나지 않았고 집단간에 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다. (Table IV, Fig. 4)

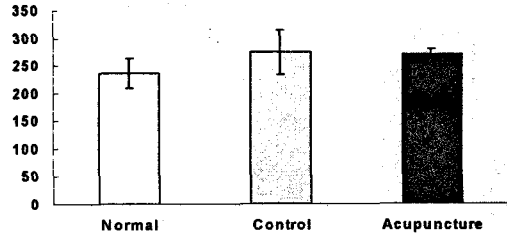


Fig. 4. Quantitative analysis of the number of c-Fos positive cells per mm<sup>2</sup> in Cingulate cortex in continuous maternal care group, maternal separation group and maternal separation with acupuncture group. All data are presented as mean ± standard error.

Normal : continuous maternal care group

Control : maternal separation group

Acupuncture : maternal separation group with acupuncture at Shinmun

#### IV. 考 察

우울증은 최근 사회가 복잡해지면서 증가하는 스트레스에 대한 개인의 대응능력 저하로 인해 발생이 증가하고 있는 정신과 영역의 대표적인 질환으로 우울 기분, 흥미나 즐거움의 상실, 식욕·체중·수면·정신운동 활동의 변화, 감소된 에너지, 무가치감, 죄책감, 반복되는 죽음에 대한 생각 등의 증상을 포괄하는 정신 장애이다.

한의학에서는 우울증을 鬱證의 범주로 보고, 氣機가 鬱滯되어 通暢하지 못함으로써 유발되는 病證으로 인식하여 왔다. 鬱證은 內經의 [素問·至眞要大論]에서 "諸氣臍鬱 皆屬於肺"라 하여 처음 소개되었으며, [素問·本病論]에서 "久而化鬱", "日久成鬱", "伏之化鬱"이라 하였고, [素問·刺法論]에서 "抑之鬱發"이라 하여 급성적이라기 보다는 만성적인 억압으로 말미암아 형성되는 舒暢, 通暢되지 못하는 상태로 설명되었다. 후대로 갈수록 정신적인 개념의 의미가 커져 明代의 張<sup>10)</sup>은 怒鬱, 思鬱, 憂鬱 등의 情志

之鬱 이라는 개념을 설정하였고, 清代의 葉<sup>11)</sup>은 “悲泣, 乃情懷內起之病, 病生于鬱…”라 하여 情志之鬱로 인한 임상증례를 다룸으로써 鬱證과 정신적인 측면 사이의 관련성을 제시하였다. 강<sup>12)</sup>은 우울증 증상 중 우울 기분, 흥미와 즐거움의 상실, 집중력과 주의력의 감소, 죄의식이나 쓸모없다는 생각 등을 한의학적 鬱證의 증상과 연관된다 보았으며, 김<sup>13)</sup>은 우울증을 억압되고 침울한 정신 상태로 인하여 모든 생리기능이 침체되는 현상으로 인식하고, 발산시킬 수 없는 욕구불만이나 지속되는 우울, 지나친 사려나 비탄 등이 원인이 되는 수가 많다고 해석하여, 일종의 독립된 병증으로 논술하면서 정서적 원인으로 생긴 협의의 鬱證을 우울증의 한의진단명으로 사용하고 있다.

鬱證의 증상으로는 心下痞滿, 胸悶, 胸痛, 脇痛, 食慾不振, 食不化, 四肢沈重無力, 小便赤澀, 大便秘 或 難澀, 目赤, 耳鳴, 眩暈, 心悸, 心煩 등이 있는데, 박<sup>14)</sup> 등은 우울증의 증상과 관련된 침구 치료에 대한 문헌고찰에서 少府, 大敦, 大陵, 足三里, 神門 등의 心包經, 肝經 및 心經의 經穴이 主治穴로 選用될 수 있으며, 그 공통적인 穴性은 清神寧志, 清上焦之熱, 調中氣, 理下焦, 疏三焦氣火 등이라고 보고하였다. 그 중의 神門은, 神은 神明을, 門은 門戶를 의미하여 神明의 출입구로 心에 가장 잘 통하는 穴이라는 의미에서 붙여진 명칭에서 알 수 있듯이 安神, 捻心을 주 작용으로 하며, 심계항진, 심장쇠약, 협심증, 치매, 전간, 건망증, 뇌빈혈, 두통, 불면증, 구토, 자궁내막염, 황달, 변비 등을 치료하는 手少陰心經의 原穴이다. [靈樞 · 邪客篇]에서 “心者 五臟六腑之大主也, 精神之所舍也”라 하였고 [素問 · 六節臟象論]에는 “心者 生之本 神之變”이라 하였는데 이는 心이 神의 작용을 통하여 五臟六腑를 지도하고 있음을 나타낸 것이며, 李<sup>15)</sup>는 心

을 血肉之心과 神明之心으로 나누어 神明之心은 心이 맡은 정신기능을 의미한다고 하였다. 또한 原穴 자침에 대하여 [靈樞 · 九鍼十二原]에서 “五臟有六腑, 六腑有十二原, 十二原出于四關, 四關主治五臟. 五臟有疾, 當取之十二原”이라 하였고, [難經 · 六十六難]에서 “五臟六腑之有病者, 皆取其原也.”라고 하였듯이 原穴은 소속 장부의 질환을 치료하는 작용이 他穴보다 우세하므로 본 연구에서는 心經의 原穴인 神門의 選穴을 통해 침자극이 우울증에 미치는 효과와 기전을 알아보고자 하였다.

기존의 연구를 살펴보면 神門 침자극이 심리적인 스트레스를 감소시키고, 불면증 치료에 효과적이라는 임상보고가 있었으며, 국소 뇌혈류량을 증가시키고, 혈압 및 심박동수의 변화에 길항적으로 작용하여 혈압 및 심박동수의 조절을 요하는 병증치료에 유효한 효과가 있다는 보고가 있었다. 또한 긴장을 가한 동물의 cortisol, norepinephrine치를 감소시킴으로써 긴장완화에 영향을 미친다는 彭<sup>16)</sup>의 연구를 비롯하여 인체의 스트레스 관련 호르몬에 미치는 영향에 관한 연구가 李<sup>17)</sup>, 鄭<sup>18)</sup> 등에 의해 보고되었다. 李<sup>19)</sup> 등은 神門 침자극이 급성 코카인 중독으로 인한 보행성 활동량의 증가를 막고, 측핵(nucleus accumbens)과 선조체(strium)의 c-Fos 발현을 감소시킴으로써 약물중독을 억제시킨다고 보고하였다.

정신과 영역에서 동물모델들은 인간의 정신증상과 유사한 상태를 조성한 후 정신장애의 발생을 연구하고 다양한 치료법의 효과를 시험하는데 필요하다. 우울증의 치료를 위한 항우울제의 개발 과정에서 Flinders Sensitive Line (FSL) 모델, neonatal CLI treatment 모델, 모성분리 모델, foot-shock, 구속(restraint), tail suspension, 강제보행 등 다양한 방법을 사용하여 스트

레스 자극을 주고 우울증상을 유발하는 형태의 모델 등 다양한 동물모델들이 시도되어 왔다<sup>20)</sup>. 그중 모성분리 모델을 이용하여 시행된 연구들은, 초기에는 주로 동물 행동학적 연구가 많았던 반면, 최근 들어서는 생물학적인 변화를 고찰하는 연구들이 차츰 늘어나 스트레스로 인한 성장 호르몬의 분비 감소 및 세포 반응의 억제<sup>21)</sup>, ornithine decarboxylase의 생합성 감소<sup>22)</sup>, DNA합성의 감소, serotonin, norepinephrine, dopamine 등 신경전달물질 분비 양상의 변화<sup>23)</sup>, c-myc, max 등 특정 전사인자들의 생합성 감소<sup>24)</sup>, immediate early genes인 c-fos와 NGFI-B의 발현 유도<sup>25)</sup> 등이 보고되었다. 실제 임상에서는 우울증을 비롯하여 정신지체, 학습장애, 성격장애, 비기질성 성장실패, 그리고 반응성 애착장애 등이 어린 시절 모성의 박탈 또는 분리와 관련된다고 알려져 있으며, 흰쥐 새끼를 대상으로 한 연구에서 생후 2주 이후에 어미로부터 분리시켜 고립되게 하면 사람의 엄마와 떨어진 영아에게서 나타나는 저항(protest)이나 절망(despair)과 유사한 행동 반응이 나타난다는 보고<sup>26)</sup>가 있었다.

우울증에 대한 행동지표로는 자당 섭취량의 측정, 강제수영검사 (forced swimming test, FST), 개방장 검사, 운동 활동성의 측정 등이 있다. 본 연구에서는 모성분리와 神門 침자극이 쥐의 행동에 미치는 영향을 평가하기 위해 stabilimeter에서 운동 활동성을 측정한 결과, 모성분리 처치는 우울성향을 높여 운동 활동성을 감소시키고 神門 침자극은 운동 활동성을 유의하게 회복시켜 神門穴이 항우울 효과를 가지고 있음을 알 수 있었다.

현대 생리학적 인식에 의하면 인체내 각종 생리기능의 상호연계, 상호제약으로 인체가 항상성을 가진 통일체를 이루는 것은 신경계와 내분

비계의 조절에 의한 것이며, 그 고위중추에 뇌가 존재한다고 하였다. 미국 및 서구의 침에 대한 초기의 연구는 주로 침자극의 동통 억제 기전을 중심으로 이루어졌으며, 최근에는 PET, fMRI, 자가방사능 기록법 등의 영상기법을 이용하여 침자극에 의한 뇌혈류 변화나 대뇌 활성화 등을 확인함으로써 침효과 기전의 중간단계로 뇌의 역할을 규명하고 있다. 본 연구에서는 모성분리와 神門 침자극으로 인한 변화를 매개하는 뇌의 신경유전적 기전을 살펴보기 위해 c-Fos 면역조직 화학법을 이용하여 변연계의 신경 활성도를 측정하였다.

C-fos gene은 proto-oncogene의 일종이며 immediate early gene(IEG)의 하나로서, 생체의 내부 및 외부의 다양한 자극을 받아 세포를 성장 · 분화 · 발달시키는 역할뿐만 아니라, 세포 표면에 전달된 자극에 반응하여 장기간 지속되는 세포 반응을 매개하는 역할을 한다고 알려져 있으며, c-Fos (c-fos protein)는 이러한 c-fos gene의 산물이다. c-Fos는 여러 약물이나 스트레스를 포함한 생리적 자극에 의해 발현되므로 대뇌 대사활동의 증가와 뇌신경세포 활성화도에 대한 표지자로서 스트레스 및 스트레스와 관련된 우울증 연구에서 자주 관찰되어지는 지표이다<sup>27)</sup>. 특히 c-Fos 발현에 따른 FOS 면역반응성은 이들 스트레스 자극으로 나타나는 중추신경계의 작용부위를 해부학적으로 규명하는데 이용되고 있다.

변연계는 원시피질(archicortex, hippocampus), 고피질(paleocortex), juxtallocortex 또는 mesocortex(cingulate gyrus)로 구성된 변연엽(limbic lobe)과 이와 관련된 구조들 즉 entorhial area, septal area, indusium griseum, amygdala, mammillary body를 포함하여 일컫는 용어이다. 이들 구조의 광범위한 연결 때문



에 1937년 Papez는 이들에 의해 형성되는 구조가, 감정이 표현되는 기전과 본능적 욕구의 정서적 요소에 대한 설명을 해줄 해부학적 바탕이 될 것이라고 말하였으며, Klüver와 Bucy는 1939년 동물실험을 통해 이 학설을 뒷받침했다<sup>28)</sup>.

변연계 구조 중 기억과 학습에 중요한 역할을 하는 hippocampus는 HPA axis의 한 부분으로 환경으로부터의 스트레스나 외상에 취약한 부위로 알려져 있다<sup>29)</sup>. 따라서 어린 시절의 모성분리라는 경험이 hippocampus에 생물학적 변화를 초래한다고 가정해 볼 수 있겠다. Hippocampus (hippocampal formation)는 hippocampus proper (고유해마), dentate gyrus (치아이랑, DG), subiculum (해마이행부)로 구성되며, hippocampus proper는 subiculum쪽에서부터 수입성투사섬유에 따라 CA1, CA2, CA3, CA4의 네 구역으로 세분된다.

본 연구에서 면역조직 화학법을 이용하여 CA1, CA2, CA3, DG 구역의 c-Fos 면역반응 세포수를 측정한 결과 DG에서 Nor과 MS+HT7의 면역반응 세포수가 MS와 비교해 유의하게 낮았다. CA1에서도 DG와 같이 MS는 c-Fos 면역반응 세포 수 증가 양상을, MS+HT7은 감소양상을 보였으나 이는 통계적으로 유의하지 않았다. 이 결과를 통해 모성분리 처치는 DG에서 c-Fos 발현을 유도하며, 神門 침자극은 이러한 c-Fos 발현을 억제시킴을 알 수 있다.

林 등은 神門 침자극이 CA1, DG의 NPY-immunoreactive cell의 감소를 억제하고, DG의 세포 분열증식의 감소를 억제함으로써 모성분리로 인한 스트레스를 감소시키는 효과가 있다고 보고하였다. 유<sup>30)</sup>는 반복된 모성 분리가 새끼쥐의 DG에서 스트레스의 신경내분비학적 매개물질인 Glucocorticoid와 신경세포의 소멸과 퇴행

에 관여하며 스트레스나 염증반응에 의해 유도되는 뇌기능 조절인자인 COX-2를 증가시키므로 DG가 스트레스로 인한 뇌세포 변화의 주요 부위로 추정된다고 보고하였다. 또한 임<sup>31)</sup>은 강박장애 동물 모형에서 DG가 SSRI(selective serotonin reuptake inhibitor)의 일종으로 다양한 정신과 질환에 사용되는 항우울제인 fluoxetine의 중요한 작용부위일 가능성이 크다고 보고하였다.

기존의 연구와 본 연구의 결과를 볼때 DG는 뇌의 스트레스 반응체계에 중요한 역할을 하며, 神門 침자극의 항우울 효과는 DG의 c-Fos 발현을 유의하게 억제시킨 결과라고 생각되어진다.

여러 종류의 신경핵으로 구성된 amygdala는 주로 GABA를 함유하는 신경세포로, amygdala가 활성화되면 PVN의 신경세포가 탈억제(disinhibition)되어 결과적으로 HPA axis를 활성화시키는 작용을 하며, 조건화된 공포나 감정과 관련된 기억을 포함하는 특정한 종류의 기억에 관여한다<sup>32)</sup>. 본 연구에서는 amygdala의 Central part와 Medial part에서 모성분리 스트레스에 의한 c-Fos 발현증가와 神門자침의 c-Fos 발현 억제에 대한 경향은 나타났으나 집단간에 통계적으로 유의한 차이를 나타내지는 않았다.

Cingulate cortex는 변연계에 속한 전두피질이다. 전두피질은 영장류를 비롯한 흰쥐에서 동작기억(working memory)과 같은 인지기능의 역할을 수행하며, 특히 주의력 및 공간 인식의 기능을 가지고 있다. 전두피질에 관한 연구를 살펴보면 구속 스트레스에 의하여 cingulate cortex를 포함한 전두피질의 c-Fos 발현이 증가하였고, 소해-내관혈의 전침자극은 이를 유의성 있게 억제하였다. 노<sup>33)</sup>는 이 결과에 대해 전두피질의 c-Fos 발현 증가는 스트레스에 대항하는 공간인식에 대한 주의력을 의미하며, 구속 스트

레스 후 PVN과 같이 전두피질에서 c-Fos 발현이 증가하는 것으로 보아 전두피질은 스트레스 반응을 나타내는 신경회로에 한 부분으로 포함되며, 전침자극이 뇌의 스트레스 반응에 크게 관여한다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 모성분리 스트레스로 인한 c-Fos 발현증가 경향은 관찰되었으나 神門 침자극에 의한 c-Fos 발현억제 효과는 나타나지 않았으며, 집단간에 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다.

본 연구의 amygdala와 cingulate cortex의 결과는, 기존의 PVN의 c-Fos 연구들이 절망행동 모델<sup>34)</sup>, 구속 스트레스<sup>35)</sup>, CMS(chronic mild stress) 처치<sup>36)</sup>, footshock<sup>37)</sup>에 의해서는 c-Fos 발현의 증가를 보고한 반면, 회피할 수 없는 스트레스를 주면서 우울상태를 유발했을 시<sup>38)</sup>와, 만성적인 social defeat 처치시<sup>39)</sup>에는 각각 c-Fos와 c-Fos의 mRNA수준이 감소되어 나타난다는 상반된 보고를 한 것처럼 자극의 종류와 강도, 지속시간 등 여러 다른 인자들에 의해 c-Fos 발현 양상에 차이가 나기 때문이라고 생각해 볼 수 있겠다.

본 연구의 결과를 종합하면 1주간의 모성분리 처치는 우울증을 유발하여 운동 활동성을 감소시키고, hippocampus의 DG에서 c-Fos 발현을 증가시켰으며, 神門 침자극은 우울증의 행동지표인 운동 활동성 저하를 억제하였다. 이러한 神門 침자극의 항우울 효과는 DG에서 c-Fos 발현을 억제하는 기전에 의한 것이며, 따라서 神門穴은 우울증 침구치료의 유효한 경혈이라 할 수 있다. 이 연구는 임상에서 우울증을 비롯한 다양한 정신질환의 병태생리를 규명하는 기초 자료가 될 것으로 생각되며, 또한 수천년간의 임상경험을 거쳐 입증된 부작용이 적은 침술을 이용한 치료법의 개발과 그 작용기전에 관한 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

## V. 結 論

한의학 임상에서 정신과 질환에 다양하게 사용되는 神門穴의 우울증 치료효과를 알아보기 위해 모성분리 처치로 유도한 우울증 모델 흰쥐의 운동 활동성을 측정하고, 神門침자극의 기전을 규명하기 위해 변연계 구조 중 hippocampus, amygdala, cingulate cortex의 신경활성 변화를 c-Fos 면역조직 화학법으로 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 실험군(MS+HT7)은 대조군(MS)에 비해 운동 활동성이 유의하게 높아 神門 침자극의 항우울 효과가 인정되었다.
2. 대조군(MS) hippocampus의 DG에서 c-Fos 발현이 유의하게 증가하였는데 이는 모성분리에 의한 스트레스가 DG의 신경세포를 활성화시킨 것으로 볼 수 있으며, 실험군 (MS+HT7) hippocampus의 DG에서는 c-Fos 발현이 대조군에 비해 유의하게 억제되었다.

이상의 결과를 종합해 볼때 手少陰心經의 原穴인 神門穴의 침자극은 hippocampus의 DG에 작용해 c-Fos 발현을 억제시킴으로써 모성분리 스트레스로부터 유발되는 우울증을 완화시키는 효과가 있음을 알 수 있다.

## 參 考 文 獻

1. Guimaraes CM, Pinge MC, Yamamura Y, Mello LE. Effects of acupuncture on behavioral, cardiovascular and hormonal responses in restraint-stressed Wistar rats. *Braz J Med Biol Res.* 1997 ; 30(12) : 1445-50.
2. 황원만, 김갑성, 안창범, 임종국. 신문혈 자침이 가묘의 혈압 및 심박동수 변화에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. *대한침구학회지.* 1990 ; 7(1)

- : 187-202.
3. Chen A. An introduction to sequential electroacupuncture (SEA) in the treatment of stress related physical and mental disorders. *Acupunct Electrother Res.* 1992 ; 17(4) : 273-83.
  4. Yun SJ, Park HJ, Yeom MJ, Hahm DH, Lee HJ, Lee EH. Effect of electroacupuncture on the stress-induced changes in brain-derived neurotrophic factor expression in rat hippocampus. *Neurosci Lett.* 2002 ; 318(2) : 85-8.
  5. Park HJ, Lim S, Lee HS, Lee HJ, Yoo YM, Lee HJ et al. Acupuncture enhances cell proliferation in dentate gyrus of maternally-separated rats. *Neurosci Lett.* 2002 ; 319(3) : 153-6.
  6. Roschke J, Wolf C, Muller MJ, Wagner P, Mann K, Grozinger M et al. The benefit from whole body acupuncture in major depression. *J Affect Disord.* 2000 ; 57(1-3) : 73-81.
  7. Luo H, Meng F, Jia Y, Zhao X. Clinical research on the therapeutic effect of the electroacupuncture treatment in patients with depression. *Psychiatry Clin Neurosci.* 1998 ; 52 : 338-40.
  8. Herman JP, Cullinan WE. Neurocircuitry of stress : central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci.* 1997 ; 20(2) : 78-84.
  9. Paxinos G, Watson C. *The rat Brain : in stereotaxic coordinates.* 4th. San Diego: Academic press. 1998.
  10. 張介賓. 景岳全書. 서울 : 정담. 1999 : 385-6, 692, 1150.
  11. 葉天士. 臨証指南醫案. 서울 : 정담. 1998 : 463-73.
  12. 강형원, 장현호, 강인선, 문형철, 황유진, 유영수. 우울증의 한방적 이해에 관한 고찰. 동의 신경정신과학회지. 2001 ; 12(2) : 1-15.
  13. 金相孝. 東醫神經精神科學. 서울 :杏林出版社. 1984 : 152.
  14. 박상원, 송춘호. 憂鬱症의 灸治療에 관한 문헌적 고찰. 대한경락경혈학회지. 2002 ; 19(1) : 131-44.
  15. 李梴. 國譯編註醫學入門(1). 서울 : 南山堂. 1984 : 44.
  16. 팽재원. 고정방법으로 긴장을 유발시킨 백서에 자침이 미치는 영향. 경산대학교 대학원. 1988.
  17. 이호섭. 鍼刺가 건강인의 혈장내  $\beta$ -endorphin 함량 및 renin 활성에 미치는 영향. 원광대학교 대학원. 1984.
  18. 정성운. 神門 및 內關刺戟이 긴장완화에 미치는 실험적 연구. 경산대학교 대학원. 1989.
  19. 이봄비, 심인섭, 양재하, 이학인, 함대현, 이해정. 신문 침자극이 급성 코카인 투여로 인한 보행성 활동량과 뇌내 c-Fos발현에 미치는 효과. 대한경락경혈학회지. 2002 ; 19(1) : 25-33.
  20. Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat : implications for a model of depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 1981 ; 5(2) : 247-51.
  21. Kuhn CM, Butler SR, Schanberg SM. Selective depression of serum growth hormone during maternal deprivation in rat pups. *Science.* 1978 ; 201(4360) : 1034-6.
  22. Kuhn CM, Schanberg SM. Responses to maternal separation : mechanisms and mediators. *Int J Dev Neurosci.* 1998 ; 16(3-4)

- : 261-70.
23. Andersen SL, Lyss PJ, Dumont NL, Teicher MH. Enduring neurochemical effects of early maternal separation on limbic structures. *Ann N Y Acad Sci.* 1999 ; 877 : 756-9.
  24. Wang S, Bartolome JV, Schanberg SM. Neonatal deprivation of maternal touch may suppress ornithine decarboxylase via down-regulation of the proto-oncogenes c-myc and max. *J Neurosci.* 1996 ; 16(2) : 836-42.
  25. Smith MA, Kim SY, Van Oers, Levine S. Maternal deprivation and stress induce immediate early genes in the infant rat brain. *Endocrinology.* 1997 ; 138(11) : 4622-8.
  26. Hofer MA. On the nature and consequences of early loss. *Psychosom Med.* 1996 ; 58 : 571-81.
  27. Imaki T, Shibasaki T, Hotta M, Demura H. Early induction of c-Fos precedes increased expression of corticotropin-releasing factor messenger ribonucleic acid in the paraventricular nucleus after immobilization stress. *Endocrinology.* 1992 ; 131(1) : 240-6.
  28. 김진수, 최경규, 이명식. 최신신경학. 서울 : 과학서적센터. 2000 : 190-3.
  29. Gould E, Tanapat P. Stress and Hippocampal Neurogenesis. *Biol Psychiatry.* 1999 ; 46(11) : 1472-9.
  30. 유희정. 반복 모성 분리가 離乳前期 백서 뇌의 glucorticoid receptor와 cyclooxygenase-2에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 박사학위 논문. 2001.
  31. 임옥근. Fluoxetine이 Schedule-Induced Polydipsia 흰쥐 해마에서 c-Fos 발현에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 박사학위 논문. 2000.
  32. 김진수, 최경규, 이명식. 최신신경학. 서울 : 과학서적센터. 2000 : 190-3.
  33. 노동일. 백서에서 전침이 구속스트레스에 의한 뇌내 c-Fos 발현에 미치는 효과. 경산대학교 대학원. 2002.
  34. 방승규, 김우선. 절망행동모형에 의한 흰쥐 대뇌의 Fos 발현의 증가. *신경정신의학.* 1995 ; 35(1) : 1949-55.
  35. 조성일, 이성필, 이창욱, 김우선, 백인호. Diazepam이 강박 스트레스 흰쥐 뇌의 Fos 발현에 미치는 영향. *신경정신의학.* 1997 ; 36(5) : 927-34.
  36. 현경철. 遠志石菖蒲散이 CMS를 받은 흰쥐의 우울, 학습, 그리고 뇌의 TH 및 c-Fos 발현에 미치는 영향. 경희대학교 대학원. 2002.
  37. Beck CH, Fibiger HC. Chronic desipramine alters stress-induced behaviors and regional expression of the immediate early gene, c-fos. *Pharmacol Biochem Behav.* 1995 ; 51(2-3) : 331-8.
  38. Steciuk M, Kram M, Kramer GL, Petty F. Decrease in stress-induced c-Fos-like immunoreactivity in the lateral septal nucleus of learned helpless rats. *Brain Res.* 1999 ; 822(1-2) : 256-9.
  39. Kollack-Walker S, Don C, Watson SJ, Akil H. Differential expression of c-fos mRNA within neurocircuits of male hamsters exposed to acute or chronic defeat. *J Neuroendocrinol.* 1999 ; 11(7) : 547-59.