

원저

## 침자극이 흰쥐 대뇌피질의 NADPH-d와 nNOS, NPY, VIP신경세포에 미치는 영향

이현수\* · 김용석\*\* · 김창환\*

\*경희대학교 한의과대학 침구학교실

\*\*경희대학교 강남한방병원 침구과

### Abstract

The effect of acupuncture on Choksamni (ST36),  
Kokchi (LI11) & Arbitrary acupoint on  
NADPH-diaphorase, neuronal Nitric Oxide  
Synthase, Neuropeptide Y and Vasoactive  
Intestinal Peptide in the cerebral cortex of  
Spontaneously Hypertensive Rats

Lee Hyun-soo\*, Kim Yong-suk\*\* and Kim Chang-hwan\*

\*Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine,  
Kyung-Hee University

\*\*Department of Acupuncture & Moxibustion, Kang-Nam Korean Hospital,  
Kyung-Hee University

- 접수 : 2004년 3월 19일 · 수정 : 2004년 3월 20일 · 채택 : 2004년 3월 22일  
· 교신저자 : 김창환, 서울시 동대문구 회기동 1번지 경희대 부속한방병원 침구과  
Tel. 02-958-9192 E-mail : Kchacu@khmc.or.kr

**Objective** : To investigate the effects of acupointed Choksamni(ST36), Kokchi(LI11) and Arbitrary acupoint on NADPH-diaphorase, neuronal nitric oxide synthase(nNOS), neuropeptide Y(NPY) and vasoactive intestinal peptide(VIP) in the cerebral cortex of spontaneously hypertensive rats.

**Methods** : The experimental groups were divided into four groups: Normal, Choksamni(ST36), Kokchi(LI11), arbitrary group. Needles were inserted into acupoints at the depth of 0.5 cm with basic insertion method.

Such stimulation was applied continuously for 10 minutes, every other day, for 10 sessions of treatments. Thereafter we evaluated changes in NADPH-d-positive neurons histochemically and changes in nNOS, NPY and VIP-positive neurons immunohistochemically.

**Results** : The optical densities of NADPH-d-positive neurons of all the Choksamni & Kokchi groups were significantly different in all areas of cerebral cortex as compared to arbitrary group. In motor1, sensory2, cingulate2, insular, peripheral, visual cortex there was a significant difference between Choksamni & Kokchi group.

The optical densities of nNOS-positive neurons of Choksamni group were significantly different in all areas except for auditory, visual and pisiform cortex and Kokchi group in all areas except for auditory and pisiform cortex as compared to arbitrary group. And there was a significant difference in cingulate1, cingulate2, ectohinal, visual cortex between Choksamni & Kokchi group.

The optical densities of NPY neurons of Choksamni group were significantly different in cingulate2, insular, pisiform cortex and Kokchi group in motor1, motor2, sensory1, cingulate2, ectorhinal cortex as compared to arbitrary group. And there was no significant difference between Choksamni & Kokchi group.

The optical densities of VIP neurons of Choksamni group were significantly different in all areas except for motor1, auditory cortex and Kokchi group in sensory1, insular, ectorhinal, perirhinal, visual, pisiform cortex as compared to arbitrary group. And there was a significant difference in cingulate1, cingulate2, retrosplenial, auditory cortex between Choksamni & Kokchi group.

**Conclusion** : Our results demonstrated that acupuncture on Choksamni(ST36) & Kokchi(LI11) changes the control activities of the NO system in the cerebral cortex of SHR and according to areas there were significant difference between two groups. In all cerebral cortex areas there were distributed NPY & VIP and there were no significant difference among Choksamni(ST36), Kokchi(LI11) and arbitrary group.

**Key words**: acupuncture, cerebral cortex, NADPH-d, nNOS, NPY, VIP.

## I. 緒 論

침요법은 최근 양전자방출단층촬영(positron emission tomography, PET)과 기능자기공명영상(functional magnetic resonance imaging, fMRI)을 비롯한 영상기법을 이용하여 시각, 운동 등의 자극에 대한 대뇌피질활동의 생리변화를 확인함으로써 뇌의 통제과정을 통해서 효과를 발현한다는 가설을 제시하기에 이르렀다<sup>1-5)</sup>.

침자극이 중추신경계에 미치는 영향에 관한 연구는 신경전달물질을 중심으로도 활발히 진행중이다<sup>16-12)</sup>. 김 등<sup>1)</sup>은 전침요법의 효과와 nitric oxide synthase (NOS) 및 neuropeptide Y (NPY)와의 상관관계를 연구한 결과 각 經穴에 따라 대뇌피질에 NOS의 활성변화에 영향을 주며, NPY의 활성변화는 足三里에서만 보인다고 보고하였으며, 김 등<sup>13)</sup>은 뇌졸거의 NOS 활성변화도 대뇌피질과 동일한 양상을 보인다고 보고하였다. 김 등<sup>14)</sup>은 2 Hz와 100 Hz의 전침자극과 neuronal nitric oxide synthase (nNOS)와의 상관관계를 연구한 결과 2 Hz의 전침자극이 100 Hz 보다 중추신경계에 유의한 변화를 준다고 보고하였고, 조 등<sup>15)</sup>은 자극횟수에 따라 중추신경계의 nNOS에 유의한 변화를 보고하였다. 정 등<sup>16)</sup>은 足三里 經穴配合에 따라 중추신경계의 nitric oxide (NO)system 및 NPY와 vasoactive intestinal peptide(VIP)가 각각 다른 신경세포 활성도를 나타내어 配穴에 따라서 서로 다른 신경전달물질에 영향을 미친다고 보고하였다. 또한 이 등<sup>11)</sup>은 경혈의 전침과 경혈이 아닌 곳의 전침은 Interleukin-6의 활성화에 미치는 영향이 다르므로 경혈의 특이성이 존재

한다고 하였다.

그러나 위의 연구들은 모두 전침에 의해서 시행되어졌으며 단순 침자극이 뇌내의 신경전달물질에 미치는 영향에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

이에 저자는 經穴의 침자극이 대뇌피질의 NO system 및 신경전달물질에 미치는 영향을 검토하고자 흰쥐의 足三里(ST36), 曲池(LI11) 및 任意穴에 단순 침자극을 시행한 후 대뇌피질에서 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-diaphorase (NADPH-d)는 조직화학법으로, nNOS, NPY, VIP는 면역조직화학법으로 각각 염색성의 변화를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 實 驗

### 1. 動物 및 材料

#### 1) 動物

2주간 실험 환경에 적응시킨 체중 300±30g, 11±1주령의 SHR 흰쥐를 각 군 당 13마리씩 배당하였다.

#### 2) 鍼

鍼은 길이 0.8 mm, 직경 0.15 mm의 stainless steel(정화침구사, 한국) 毫鍼을 사용하였다.

### 2. 方法

#### 1) 穴位의 選定

실험동물의 체표상에 任意穴과 인체의 足三

里(ST36), 曲池(LI11)에 상응하는 부위를 고<sup>17)</sup>의 방법에 따라 取穴하였다.

## 2) 實驗群 設定

- ① 정상군 : 침자극을 하지 않은 群
- ② 足三里자침군 : 左右를 교대로 편측의 足三里에 침자극을 준 群
- ③ 曲池자침군 : 左右를 교대로 편측의 曲池에 침자극을 준 群
- ④ 任意穴자침군 : 꼬리의 시작부위에서 끝쪽으로 3분의 1지점에 0.5cm 깊이로 침자극을 준 群

## 3) 鍼刺戟

침자극은 2일에 1회, 오전 10시에 10분간 유침하였고, 총 자극횟수는 10회로 하였다.

## 3. 組織處理<sup>18)</sup>

실험동물은 pentobarbital sodium(60 mg/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% paraformaldehyde용액(4°C)을 10분간 관류시켰다. 이때 관류속도는 50~60 ml/min이 되도록 하였다. 관류고정 후 각각 대뇌를 적출하여 4~6mm두께로 관상절개하여 동일한 고정액에 담가서 4°C에서 16시간 후에 고정한 후 0.1 M PBS에 탄 20% sucrose 용액에서 2~5일간 보관하였다. 뇌조직의 절단은 cryocut (Leica, Germany)을 이용하여 40 $\mu$ m 두께의 연속횡단절편을 제작하였고, 자른 조직은 매 5장마다 1장씩을 취하여 염색을 시행하였다.

## 4. NADPH-d의 組織化學法<sup>19-20)</sup>

NADPH-d의 조직화학을 위하여 조직절편을 0.1%  $\beta$ -NADPH, 0.01% nitroblue tetrazolium (NBT) 0.3% Triton X-100을 0.1M PB에 녹인 반응혼합액에 넣어 37°C 수조에서 60분간 반응시켰다. 원하는 정도의 반응이 나타나면 조직을 PBS로 씻어서 더 이상의 발색을 정지시켰다. 발색이 끝난 조직은 gelatin-coated slide에 얹어서 2시간동안 실온에서 건조시킨 후 xylene으로 투명화시켜 polymount로 봉입하였다.

## 5. nNOS, NPY, VIP의 免疫組織化學法<sup>20)</sup>

nNOS, NPY, VIP의 면역조직화학을 위하여 조직절편은 내재성 페록시다제(endogenous peroxidase)를 비활성화시키기 위해 PBS에 희석한 1% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에서 15분간 반응시킨 다음 5분씩 3회 PBS로 세척한 후 rabbit anti-nNOS (Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA, USA), abbit anti-NPY(Incstar, stillwater, MN, USA), rabbit anti-VIP(Incstar, stillwater, MN, USA)를 각각 1:4,000으로 희석한 항체를 0.05% bovine serum albumin, 1.5% goat serum 및 0.3% Triton X-100이 들어있는 1차 항체용액에 넣고 4도에서 overnight하였다. 1차 항체용액에서의 반응이 끝나면 조직을 PBS로 5분씩 3번 씻은 후, Vectastain-Elite kit(Vector Labs., Burlingame, CA, USA)의 2차 항체용액(Biotinylated anti-IgG를 1:200으로 희석, 0.3% Triton X-100)에서 1시간 동안 실온에서 반응시켜 항체 용액에서 반응이 끝난 후 PBS로 5분씩 3차례 씻은 후 avidin-biotin-peroxidase complex 용액(Vectastain-Elite kit의 A 용액 1:100, B 용액 1:100, 0.3% Triton X-100)에서

1시간동안 실온에서 반응시켰으며 발색제로는 3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride(Sigma, ST.Louis, MO, USA)를 0.05 M Tris 완충액에 0.02%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 는 0.003으로 사용하였다. 발색반응은 상온에서 3분간 시켰으며, 반응이 끝난 후 조직을 PBS로 5분씩 3회 세척하였다. 발색이 끝난 조직은 gelatin-coated slide에 얹어서 2시간동안 실온에서 건조시킨 후 xylene으로 투명화시켜 histomount로 봉입하였다.

## 6. 組織觀察 및 映像分析<sup>20)</sup>

대뇌 피질 영역에 分布하는 NADPH-d 및 nNOS, NPY, VIP 신경세포의 위치 및 형태를 광학현미경으로 관찰하였으며 염색강도는 영상분석기(Multiscan, USA)의 densitometry를 이용하여 gray scale로 측정하였다. Average optical density (AOD)는 흰색을 0, 검은색을 255로 정하여 염색된 조직은 그 사이의 값을 갖고, 이때는 광원의 밝기에 따라 AOD의 값이 달라지므로 광원을 고정시킨 후 측정하였다. 측정한 광원의 밝기는 광원의 밝기에 따라 염색된 전체조직과 조직이 없는 부위를 각각 영상분석기로 측정하여 광원과 AOD 사이의 상관관계 standard curve를 얻은 후 가장 차이가 많이 나는 영역을 측정 광원으로 정하였다. 이때 각 실험군 당 적어도 15개 영역이상을 CCD camera를 통해 200×의 광학현미경에서 온 영상을 받아 영상분석기로 측정하였다. 각 부위에서 세부구조의 위치와 명칭은 Paxinos와

Watson의 부도<sup>20)</sup>를 참고하였다.

## 7. 統計處理

실험결과는 SPSS Window program(Ver. 7.0)을 이용하였으며, 모든 측정값은 평균값±표준오차(Mean±standard error)로 나타내었고, 유의성 판정은  $\alpha=0.05$ 로 하였다. 각 실험군 간의 통계학적 분석은 ANOVA와 Duncan test 검정을 실시하였다.

# III. 成 績

## 1. 大뇌피질 領域에서 NADPH-d 染色性的 變化

정상군과 비교하여 足三里자침군은 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었으며, 曲池자침군은 cingulate2를 제외한 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었고, 任意穴자침군은 sensory1, cingulate2, retrosplenial, ectorhinal, auditory, piriform cortex에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 任意穴자침군과 비교하여 足三里자침군과 曲池자침군은 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 足三里자침군과 曲池자침군 사이에는 motor1, sensory2, cingulate2, insular, perirhinal, visual cortex에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다(Table 1).

Table 1. Optical Densities of NADPH-d positive Neurons after Acupuncture in the Cerebral Cortex of SHR

	Normal	Choksamni	Kokchi	Arbitrary
<b>M1</b>	142.0±1.6(a)	106.9±2.0(b)	99.1±2.1(c)	142.5±1.6(a)
<b>M2</b>	144.2±1.9(a)	106.9±2.0(b)	105.5±2.1(b)	139.4±1.8(a)
<b>S1</b>	153.0±1.9(a)	111.4±1.4(c)	114.0±2.1(c)	144.1±1.4(b)
<b>S2</b>	143.8±2.0(a)	96.8±2.3(b)	114.8±1.7(c)	147.0±1.3(a)
<b>Cg1</b>	151.0±0.6(a)	114.4±1.4(b)	111.6±2.2(c)	149.2±1.7(a)
<b>Cg2</b>	99.9±2.8(a)	118.9±2.3(c)	101.6±1.8(a)	145.6±1.3(b)
<b>Ins</b>	153.5±1.7(a)	99.1±2.1(b)	125.1±1.9(c)	146.3±2.1(a)
<b>Rsp</b>	133.3±1.4(a)	102.2±1.9(c)	104.9±2.5(c)	143.3±1.4(b)
<b>Erh</b>	134.3±1.7(a)	110.7±1.9(c)	116.1±1.3(c)	152.7±2.0(b)
<b>PRh</b>	146.8±1.7(a)	104.0±2.1(b)	119.4±2.7(c)	152.0±1.3(a)
<b>Au</b>	142.2±1.8(a)	110.2±2.9(c)	112.1±2.3(c)	153.2±1.4(b)
<b>Vi</b>	138.6±1.4(a)	93.4±2.4(b)	108.1±3.0(c)	142.8±2.0(a)
<b>Pf</b>	147.2±2.1(a)	114.2±2.0(c)	115.3±1.9(c)	98.3±1.8(b)

Data are mean ± SEM(n) of average optical density. The means with same letter in row is not significantly different(Duncan's multiple range test, α=0.05). M1, primary motor cortex; M2, secondary motor cortex; S1, primary somatosensory cortex; S2, secondary somatosensory cortex; Cg1, primary cingulate cortex; Cg2, secondary cingulate cortex; Ins, insular cortex; RSp, retrosplenial cortex; ERh, ectorhinal cortex; PRh, perirhinal cortex; Au, auditory cortex; Vi, visual cortex; Pf, pisiform cortex.

Normal; Nontreated group

Choksamni(ST36); Group given acupuncture to Choksamni

Kokchi(LI11); Group given acupuncture to Kokchi

Arbitrary; Group given acupuncture to one third point of full tail from the coccyx

## 2. 대뇌피질 領域에서 nNOS 染色性的 變化

정상군과 비교하여 足三里자침군은 motor1, motor2, sensory1, sensory2, insular, retrosplenial, visual cortex에서 유의한(α=0.05) 차이가 있었고, 曲池자침군은 perirhinal, auditory, visual,

piriform cortex를 제외한 전 영역에서 유의한(α=0.05) 차이가 있었고, 任意穴자침군은 motor1, motor2, sensory2, insular, pisiform cortex를 제외한 전 영역에서 유의한(α=0.05) 차이가 있었다. 任意穴자침군과 비교하여 足三里자침군은 auditory, visual, piriform cortex를 제외한

전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었고, 足三里자침군과 曲池자침군 사이에 cingulate1, 曲池자침군은 auditory, piriform cortex를 제외 cingulate2, ectorhinal, visual cortex에서 유의한 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다(Table 2).

Table 2. Optical Densities of nNOS-positive Neurons after Acupuncture in the Cerebral Cortex of SHR

	Normal	Choksamni	Kokchi	Arbitrary
M1	108.6±2.9(a)	94.3±2.3(b)	90.1±3.3(b)	116.6±2.1(a)
M2	108.9±2.9(a)	93.9±2.2(b)	96.1±1.8(b)	116.9±3.7(a)
S1	105.9±2.4(a)	93.0±2.8(c)	85.0±1.3(c)	116.2±2.4(b)
S2	106.2±3.6(a)	93.7±2.7(b)	86.0±2.3(b)	117.9±2.6(a)
Cg1	106.0±2.9(a)	103.5±2.7(a)	92.2±2.5(c)	118.3±2.6(b)
Cg2	98.1±2.5(a)	98.1±2.1(a)	83.5±1.5(c)	108.8±1.9(b)
Ins	106.9±2.7(a)	94.7±2.8(b)	88.5±1.7(b)	115.8±1.6(a)
RSp	83.7±1.0(a)	98.6±2.1(c)	96.6±3.5(c)	110.7±3.3(b)
ERh	97.6±2.3(a)	96.4±1.4(a)	88.5±1.8(c)	106.2±1.5(b)
PRh	94.0±1.5(a)	92.1±2.8(a)	89.1±2.2(a)	103.5±2.1(b)
Au	89.7±1.7(a)	95.7±1.7(a.b)	94.9±3.7(a,b)	103.7±2.1(b)
Vi	99.5±2.1(a)	106.0±1.6(b)	98.2±1.3(a)	109.4±1.6(b)
Pf	95.9±2.1(a)	91.7±2.5(a)	95.6±1.2(a)	100.2±2.4(a)

Data are mean ± SEM(n) of average optical density. The means with same letter in row is not significantly different(Duncan's multiple range test,  $\alpha=0.05$ ). M1, primary motor cortex; M2, secondary motor cortex; S1, primary somatosensory cortex; S2, secondary somatosensory cortex; Cg1, primary cingulate cortex; Cg2, secondary cingulate cortex; Ins, insular cortex; RSp, retrosplenial cortex; ERh, ectorhinal cortex; PRh, perirhinal cortex; Au, auditory cortex; Vi, visual cortex; Pf, pisiform cortex.

Normal; Nontreated group

Choksamni(ST36); Group given acupuncture to Choksamni

Kokchi(LI11); Group given acupuncture to Kokchi

Arbitrary; Group given acupuncture to one third point of full tail from the coccyx

3. 대뇌피질 領域에서 NPY 染色性的 變化 하여 足三里자침군은 cingulate2, insular, pisiform cortex에서, 曲池자침군은 motor1, motor2, sensory1, cingulate2, ectorhinal cortex에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 足三里자침군과 曲池자침군 사이에는 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 없었다(Table 3).

Table 3. Optical Densities of NPY-positive Neurons after Acupuncture in the Cerebral Cortex of SHR

	Normal	Choksamni	Kokchi	Arbitrary
M1	100.1±1.5(a)	101.4±1.7(a.b)	99.5±1.4(a)	107.8±2.1(b)
M2	103.3±1.3(a)	106.0±1.5(a.b)	103.7±1.3(a)	111.5±1.5(b)
S1	100.5±1.1(a)	105.6±1.8(a.b)	100.2±1.7(a)	108.9±1.9(b)
S2	98.8±1.5(a)	103.4±1.8(a)	102.7±2.0(a)	100.0±2.2(a)
Cg1	103.8±1.9(a)	106.8±1.5(a)	105.0±1.4(a)	109.3±1.1(a)
Cg2	95.6±1.5(a)	101.0±1.4(a)	96.0±2.2(a)	112.8±1.9(b)
Ins	98.3±1.5(a)	110.4±1.9(b)	103.5±2.3(a.b)	102.9±1.7(a)
RSp	98.3±1.5(a)	101.7±2.3(a.b)	105.9±1.2(b)	102.3±2.0(a.b)
ERh	102.1±2.0(a.b)	104.1±2.1(a.b)	109.6±1.5(b)	99.9±1.8(a)
PRh	99.6±2.8(a)	107.3±2.7(a)	108.8±2.0(a)	102.8±2.2(a)
Au	97.6±1.9(a)	101.6±1.5(a.b)	105.0±1.4(b)	100.4±1.7(a.b)
Vi	99.8±0.6(a)	102.9±1.3(a.b)	105.2±1.7(b)	106.1±1.0(b)
Pf	98.4±2.8(a.b)	106.1±1.7(b)	103.4±1.1(a.b)	98.3±1.8(a)

Data are mean ± SEM(n) of average optical density. The means with same letter in row is not significantly different(Duncan's multiple range test,  $\alpha=0.05$ ). M1, primary motor cortex; M2, secondary motor cortex; S1, primary somatosensory cortex; S2, secondary somatosensory cortex; Cg1, primary cingulate cortex; Cg2, secondary cingulate cortex; Ins, insular cortex; RSp, retrosplenial cortex; ERh, ectorhinal cortex; PRh, perirhinal cortex; Au, auditory cortex; Vi, visual cortex; Pf, pisiform cortex.

Normal; Nontreated group

Choksamni(ST36); Group given acupuncture to Choksamni

Kokchi(LI11); Group given acupuncture to Kokchi

Arbitrary; Group given acupuncture to one third point of full tail from the coccyx



4. 대뇌피질 領域에서 VIP 染色性の變化  
정상군과 비교하여 足三里자침군은 insular, ectorhinal, auditory, visual cortex에서, 曲池자침군은 cingulate1, cingulate2, auditory cortex에서, 任意穴자침군은 motor1, motor2, sensory1 cortex 영역을 제외한 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 任意穴자침군과 비교하

여 足三里자침군은 motor1, auditory cortex를 제외한 전 영역에서, 曲池자침군은 sensory1, insular, ectorhinal, perirhinal, visual, pisiform cortex에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 足三里자침군과 曲池자침군 사이에는 cingulate1, cingulate2, retrosplenial, auditory cortex 영역에서만 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다(Table 4).

Table 4. Optical Densities of Vasoactive Intestinal Peptide-Positive Neurons after Acupuncture in the Cerebral Cortex of SHR

	Normal	Choksamni	Kokchi	Arbitrary
M1	102.9±1.0(a)	97.3±1.2(a)	100.0±0.9(a)	102.0±2.6(a)
M2	99.1±1.7(a.b)	93.0±1.9(b)	98.1±1.4(a.b)	104.2±2.6(a)
S1	104.9±1.6(a.b)	99.1±1.3(b)	100.5±1.7(b)	107.6±1.3(a)
S2	96.1±1.7(a)	94.8±1.6(a)	102.2±1.4(a.b)	107.8±2.2(b)
Cg1	94.8±1.3(a)	95.7±2.2(a)	107.8±1.0(b)	113.3±1.6(b)
Cg2	85.8±1.5(a)	84.0±0.8(a)	93.6±1.2(b)	95.7±1.4(b)
Ins	102.5±1.4(a)	93.3±1.4(c)	96.2±1.2(a.c)	111.0±2.2(b)
RSp	96.8±2.3(a.c)	93.9±1.2(a)	103.0±0.9(b.c)	104.2±1.3(b)
ERh	92.1±1.4(a)	100.6±2.0(c)	95.3±1.4(a.c)	114.5±1.3(b)
PRh	92.2±1.0(a)	90.0±1.5(a)	89.8±1.1(a)	106.6±1.3(b)
Au	95.0±1.4(a)	102.8±1.8(b)	110.3±1.3(c)	108.3±2.1(b.c)
Vi	98.1±1.9(a)	88.7±1.4(c)	93.1±0.9(a.c)	106.0±1.3(b)
Pf	95.5±1.3(a)	99.5±1.4(a)	99.1±1.7(a)	112.4±1.4(b)

Data are mean ± SEM(n) of average optical density. The means with same letter in row is not significantly different(Duncan's multiple range test,  $\alpha=0.05$ ). M1, primary motor cortex; M2, secondary motor cortex; S1, primary somatosensory cortex; S2, secondary somatosensory cortex; Cg1, primary cingulate cortex; Cg2, secondary cingulate cortex; Ins, insular cortex; RSp, retrosplenial cortex; ERh, ectorhinal cortex; PRh, perirhinal cortex; Au, auditory cortex; Vi, visual cortex; Pf, pisiform cortex.

Normal; Nontreated group

Choksamni(ST36); Group given acupuncture to Choksamni

Kokchi(LI11); Group given acupuncture to Kokchi

Arbitrary; Group given acupuncture to one third point of full tail from the coccyx

## IV. 고찰

경락에 관한 연구는 서양의학에서 많은 질환이 뇌에 의해 통제를 받는다고 알려져있고 PET나 fMRI 등의 영상기법을 이용하여 침자극에 의한 뇌 혈류변화나 뇌피질의 활성변화를 확인함으로써 뇌의 통제과정을 통해서 효과를 발휘한다는 가설을 제시하기에 이르렀다<sup>1-5)</sup>. 이러한 연구는 침요법의 효과를 나타내는 기전을 설명함에 있어 중간단계로 뇌의 역할을 규명하여 침요법이 뇌의 특정기능을 활성화시키고 이에 의해서 해당장기에 영향을 미쳐 효과를 나타내는 기전을 설명하는 것으로 평가할 수 있다.

침자극이 중추신경계에 미치는 영향에 대한 연구는 신경전달물질과 관련하여서도 진행되고 있다. 이 등<sup>11)</sup>은 경혈의 전침과 경혈이 아닌 곳의 전침은 Interleukin-6의 활성에 미치는 영향이 다르므로 경혈의 특이성이 존재한다고 하였고, 손 등<sup>21)</sup>은 침자극을 가한 실험군의 대뇌활성도를 컴퓨터 영상분석기를 사용하여 동위원소 standard와 비교 분석한 결과 실험군 뇌세포의 여러 구역에서 활성이 증가된 것을 관찰하였고, 특히 진통효과에 있어서 침자극의 전달통로가 된다고 추측하고 있는 arcuate nucleus와 median eminence 부위에서 유의한 optical density의 차이를 관찰하였다. 신경독성물질인 NO에 관하여도 많은 연구가 진행중이며, 김 등<sup>6)</sup>은 이침자극이 絶食시킨 흰쥐의 음식섭취의 기전에 있어 중추적 조절과 관련된 물질인 NO의 발현변화에 미치는 영향을 대뇌피질에서 관찰하여 NO가 이침자극에 의해 활성화될 수 있다는 가능성을 제시하였다. 김 등<sup>1)</sup>은 전침자극

이 대뇌피질의 신경전달물질에 미치는 영향에 대해 전침자극 후 NADPH-d 신경세포와 NPY 신경세포의 염색성을 관찰한 결과, NOS와 NPY가 전침자극 부위에 따라 각각 다른 신경세포의 변화를 보여, 신경전달물질에 따라서 전침자극에 의한 영향을 받는 기전이 다를 것이라는 추정을 통하여 전침요법이 중추신경계의 수많은 peptidergic system를 활성화시킨다는 가설을 제시하였다. 김 등<sup>13)</sup>은 SHR에서 정상군과 任意穴, 足三里, 腎俞에 각각 동일한 전침자극을 준 후 뇌간에서 NADPH-d 신경세포와 nNOS 신경세포의 염색성을 관찰한 결과 足三里 및 腎俞群이 정상군과 任意穴보다 유의한 염색성의 감소를 보였으며 이를 통해 경혈의 선택이 SHR에서 뇌줄기의 NO system에 변화를 일으키는데 중요한 요소임을 보고하였다. 김 등<sup>14)</sup>은 전침자극의 차이가 중추신경계에 미치는 영향에 대해서 침자극군, 2 Hz 전침군, 100 Hz 전침군으로 나누어 대뇌피질, 뇌줄기, 소뇌의 NADPH-d 신경세포를 관찰한 결과 100 Hz에서 염색성이 증가하였음을 보고하였으며 자극방식에 따라 중추신경계에 서로 다른 영향을 준다고 하였다. 정 등<sup>16)</sup>은 足三里 經穴 配合에 따라 중추신경계의 NO system 및 NPY, VIP가 각각 다른 신경세포 활성도를 나타내어 配穴에 따라서 서로 다른 신경전달물질에 영향을 미친다고 보고하였다.

NO는 작고 비교적 불안정한 두개의 원자로 이루어진 물질로 NOS에 의해 L-arginine이 L-citrulline으로 변환되는 과정에 의해 생성된다<sup>22-24)</sup>. NO는 다른 신호전달물질과는 달리 생체내에 저장되지 않으며 특이한 운반체나 채널이 필요하지 않고 구조 또한 간단하며 지용성이고 전기적으로도 중성이기 때문에 주위세포로 쉽게 확산되어 작용할 수 있어 인체내 여러

정상 생리반응의 신호전달물질로 작용한다<sup>19,25-27</sup>. NO의 작용은 산화 환원 상태에 따라서 달라지는데 iNOS에 의해 지속적으로 생성된 많은 양의 NO는 주위의 산소 유리 라디칼과 반응하여 nitrogen dioxide나 peroxyxynitrite (ONOO-)라는 강력한 산화력을 갖는 물질을 형성하여 세포막의 지질성분을 과산화시키거나 세포내 단백질의 구조와 기능을 변화시켜서 세포손상을 유발한다<sup>28</sup>.

중추신경계에서 NO는 신경계의 synaptic plasticity에 관여하거나 long-term potentiation이나 depression 등의 기억과 연관된 신경생리학적 현상에 관여하며 국소적인 뇌혈류량의 조절 및 주위의 synapse들로부터 신경전달물질의 분비를 촉진하는 역할 등을 수행한다<sup>29-31</sup>. 중추신경계의 nNOS는 특정 신경세포에 항상 존재하여 신경세포가 자극되어 세포내의 칼슘이온이 증가하게 되면 효소가 활성화되어서 소량의 NO를 합성하며, 이렇게 합성된 NO는 주위 조직에 확산되어 신경전달물질로의 역할을 수행하지만 뇌의 저산소증, 허혈증이나 뇌졸중 등의 질병상태에서 glutamate의 농도가 증가되면 세포내로 칼슘이온이 유입되어 증가하게 되고 이에 따라서 많은 양의 NO가 생성되어 신경세포에 손상을 유발하기도 한다<sup>28,32</sup>.

NOS는 NO를 만드는 효소로써 3개의 NOS 유전자가 발견되었는데, 쥐의 소뇌에서 처음 확인된 Type I NOS는 nNOS로 명명되었고, 대식세포에서 처음 확인된 Type II NOS는 immunologic NOS (iNOS)로 명명되었으며, Type III NOS는 endothelial NOS (eNOS)로 명명되었다. 또한 이들 효소들은 활성화의 기전에 따라서 constitutive NOS (cNOS)와 inducible NOS (iNOS)로 구분된다<sup>33-36</sup>.

NOS를 갖고 있는 신경세포를 조직학적으로

관찰하는 방법으로는 NADPH-d 조직화학법과 nNOS 면역조직화학법을 사용한다<sup>8,22,37-38</sup>. NADPH-d 조직화학법은 NOS가 NBT을 물에 녹이지 않는 NBT formazan으로 환원시키는 NADPH-d 활성작용이 있다는 원리를 이용한 방법이다. 이 작용에는 꼭 NADPH-d가 필요하며, NOS는 NADPH-d를 전자 공여자로 필요로 한다. NADPH-d 활성은 NOS 없이도 부신피질과 콩팥에서 나타날 수 있지만, 대뇌피질과 줄무늬체에 분포하는 NADPH-d 양성신경세포는 NOS의 활성도와 비례한다는 보고가 있다<sup>22,37</sup>. 또한 Morris 등<sup>38</sup>에 의하면 NADPH-d의 효소활성은 NOS 효소활성을 나타내는 지표라고 했다. 따라서 NO를 만드는 효소인 NOS를 함유한 신경세포는 NADPH-d 조직화학을 통하여 염색할 수 있으며 NOS 효소활성은 NADPH-d 효소활성과 비례한다고 할 수 있다. 그리고 nNOS는 효소이므로 항원항체반응을 이용한 면역조직화학법으로 변화를 측정할 수 있다. 다만 효소의 양이 적어도 활성도는 높을 수 있으므로 nNOS보다 NADPH-d의 활성에 더 큰 의미가 부여된다.

중추신경계의 신경전달물질에는 많은 종류가 있는데 대부분 origin이 pituitary hormone 혹은 gastrointestinal hormone이며 neuronal과 endocrine tissue source인 VIP와 neuron에만 존재하는 peptide라 하여 붙여진 NPY가 있다. NPY는 regulatory peptide family의 하나이며, pancreatic polypeptide(PP), peptide YY(PYY)와 sequence homology를 갖는 것으로 알려져 있으며 혈관수축인자로 중추와 말초의 교감신경에 분포하여 대뇌피질과 줄무늬체에서 사이신경원으로 존재한다<sup>39</sup>. 김 등<sup>6</sup>은 식욕을 유발시키는 인자인 NPY가 이침자극에 의해 시상하부의 arcuate nucleus(ARN)와 paraventricular

nucleus(PVN)부위에서 감소되어지는 것을 보였으며, Bucinskaite V 등<sup>40)</sup>은 전침과 신체운동의 영향이 해마내의 NPY, neurokinin A(NKA), substance P(SP)의 증가와 관련되는 것과 반복된 전침이 해마에서의 SP-LI, NKA-LI, NPY-LI와 후두부피질에서의 NPY-LI의 농도를 유의하게 증가시켰으나 침자극과 물리치료를 시행한 동물에서는 변화가 없음을 제시하였다. VIP는 cortex, amygdala, suprachiasmatic nucleus 등에서 발견되는 glucagon family 중의 하나로 insulin의 antagonist, glucagon의 glucose로의 전환을 자극하고 blood sugar level 증가하는 역할을 함으로 VIP는 혈압저하에서 혈관확장을 일으키는 것으로 알려져 있다<sup>41-42)</sup>. Zhang X 등<sup>43)</sup>은 허혈성 뇌혈관 질환의 환자들에서 CSF 내의 VIP와 SS가 낮았으며 전침으로 유의한 증가가 나타남을 보여 침치료가 CSF 내의 VIP와 SS의 대사장애를 조절하는 것을 암시했으며, Dawidson I 등<sup>44)</sup>은 VIP의 증가는 구강전조증 환자에게 나타나는 침치료의 긍정적 효과의 작용기전중의 하나가 될 것으로 제시하였다. NPY와 VIP는 신경전달물질이면서 효소의 역할을 하므로 항원항체반응을 이용한 면역조직화학법으로 관찰할 수 있다<sup>39,41-42)</sup>.

足三里(ST36)는 足陽明胃經의 經穴로서 理脾胃 調中氣 通調經絡 扶正培元<sup>45-46)</sup> 하며 Xiong K 등<sup>47)</sup>은 足三里에서의 NOS 양성신경섬유의 몇몇 말초성돌기들은 L4-S1의 ganglia로부터 분포되며 몇몇은 spinal cord의 L4-S1의 lamina IX로부터 분사되었다고 밝혀 足三里 침치료 효과의 형태학적인 기초를 제시하였으며, 이 등<sup>11)</sup>이 足三里를 이용하여 경혈의 특이성이 존재한다고 하였다. 김 등<sup>1)</sup>은 전침과 NOS, NPY 상관관계를 연구하여 NPY의 활성 변화는 足三里에서만 보인다고 보고하였으며,

김 등<sup>14)</sup>이 2 Hz와 100 Hz의 전침자극과 nNOS와의 상관관계를 연구할 때와 조 등<sup>15)</sup>이 자극 횟수에 따른 중추신경계의 nNOS에 유의한 변화를 보고할 때 모두 足三里를 경혈로 취하였다.

曲池(LI11)는 手陽明大腸經의 經穴로서 疏邪熱, 祛風濕, 調氣血<sup>45-46)</sup>하며 Yu Y 등<sup>48)</sup>은 曲池의 전침자극이 prostaglandin E2(PGE2)의 억제력을 일으켜 열을 내리는 작용을 한다고 하였고, Zhou RX 등<sup>49)</sup>은 曲池를 자극하여 암환자들의 세포면역기능을 활성화시킨다고 하였다. 또한 정 등<sup>16)</sup>은 足三里에 曲池를 配穴하여 중추신경계의 NO, NPY, VIP에 미치는 영향을 연구하였다.

이에 저자는 SHR의 足三里(ST36), 曲池(LI11)와 任意穴에 침자극을 시행하여 대뇌피질(primary motor cortex, secondary motor cortex, primary somatosensory cortex, secondary somatosensory cortex, primary cingulate cortex, secondary cingulate cortex, insular cortex, retrosplenial cortex, ectorhinal cortex, perirhinal cortex, auditory cortex, visual cortex, piriform cortex) 영역에서 NADPH-d와 nNOS, NPY 및 VIP의 염색성을 영상분석기의 densitometry 기능을 이용하여 측정하였다.

NADPH-d 염색성의 변화는 정상군과 비교하여 足三里자침군은 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었으며, 曲池자침군은 cingulate2를 제외한 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었고, 任意穴자침군은 sensory1, cingulate2, retrosplenial, ectorhinal, auditory, piriform cortex에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 任意穴자침군과 비교하여 足三里자침군과 曲池자침군은 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 足三里자침군과 曲池자침군 사이에는 motor1,

sensory2, cingulate2, insular, perirhinal, visual cortex에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 이것은 정 등<sup>16)</sup>이 足三里전침군과 足三里·曲池전침군에서 정상군보다 NADPH-d 염색성이 모두 감소했다는 것과 일치하며, 足三里자침군과 曲池자침군간의 유의한 차이는 정 등<sup>16)</sup>이 足三里자침군이 足三里·曲池자침군보다 auditory cortex를 제외한 모든 영역에서 염색성의 감소가 있다고 보고한 것과 연관된다.

nNOS 染色性的 변화는 정상군과 비교하여 足三里자침군은 motor1, motor2, sensory1, sensory2, insular, retrosplenial, visual cortex에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었고, 曲池자침군은 perirhinal, auditory, visual, piriform cortex를 제외한 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었고, 任意穴자침군은 motor1, motor2, sensory2, insular, pisiform cortex를 제외한 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 任意穴자침군과 비교하여 足三里자침군은 auditory, visual, piriform cortex를 제외한 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었고, 曲池자침군은 auditory, piriform cortex를 제외한 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 足三里자침군과 曲池자침군 사이에 cingulate1, cingulate2, ectorhinal, visual cortex에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 이것은 정 등<sup>16)</sup>이 足三里전침군은 전 영역에서, 足三里·曲池전침군에서 perirhinal, auditory cortex를 제외한 전 영역에서 nNOS 염색성이 모두 감소했다는 것과 차이가 있으며 전침과 단순 침자극이 효소자체에 미치는 영향의 차이라고 할 수 있다. 이러한 결과는 足三里와 曲池의 자침이 대뇌피질에서 NOS 활성을 억제한다는 것을 의미하며 足三里와 曲池자침군 간 영역에 따른 차이는 더 연구되어야 할 것으로 사료된다.

NPY 염색성의 변화는 정상군과 비교하여 足三里자침군은 insular cortex에서, 曲池자침군은 retrosplenial, auditory, visual cortex에서, 任意穴 자침군은 motor1, motor2, sensory1, cingulate2, visual cortex에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 任意穴자침군과 비교하여 足三里자침군은 cingulate2, insular, pisiform cortex에서, 曲池자침군은 motor1, motor2, sensory1, cingulate2, ectorhinal cortex에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 足三里 자침군과 曲池자침군 사이에는 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 없었다. 이것은 정 등<sup>16)</sup>이 足三里전침군은 visual cortex를 제외하고 정상군과 차이가 없었고, 足三里·曲池전침군이 足三里전침군보다 motor1, sensory1, cingulate cortex에서 염색성의 감소가 있다고 있다고 한 것과 차이가 있다.

VIP 染色性的 변화는 정상군과 비교하여 足三里자침군은 insular, ectorhinal, auditory, visual cortex에서, 曲池자침군은 cingulate1, cingulate2, auditory cortex에서, 任意穴자침군은 motor1, motor2, sensory1 cortex 영역을 제외한 전 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 任意穴자침군과 비교하여 足三里자침군은 motor1, auditory cortex를 제외한 전 영역에서, 曲池자침군은 sensory1, insular, ectorhinal, perirhinal, visual, pisiform cortex에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 足三里자침군과 曲池자침군 사이에는 cingulate1, cingulate2, retrosplenial, auditory cortex 영역에서 유의한( $\alpha=0.05$ ) 차이가 있었다. 이것은 정 등<sup>16)</sup>이 足三里전침군은 cingulate cortex를 제외하고 정상군보다 VIP 염색성의 감소를 나타낸 것과 足三里·曲池전침군이 auditory, cingulate, perirhinal cortex에서 足三里전침군보다 염색성의 감소를 보인 것과 차이가 있다.

이상의 실험적 연구를 통해 足三里, 曲池와

任意穴의 단순 침자극이 대뇌피질의 NO system 및 NPY, VIP 신경세포에 각각 다른 활성도를 나타냄으로써 단순 침자극도 기존의 전침자극에서 보여졌듯이 신경전달물질에 따라 서로 다른 영향을 미친다는 것을 관찰할 수 있었으며 경혈과 비경혈에 따른 활성도의 차이도 관찰할 수 있었다. 향후 뇌졸중 등 중추신경계의 다른 영역에서의 단순 침자극이 NO system 및 NPY, VIP 신경세포에 미치는 영향에 관해서도 연구되어져 할 것으로 보이며, 더 나아가 다른 신경전달물질에 대해서도 이러한 연구가 진행되어져야 할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

경혈의 침자극이 중추신경계의 NADPH-d와 nNOS, NPY 및 VIP 신경세포에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 SHR의 足三里(ST36), 曲池(LI11)와 任意穴에 침자극을 시행한 후 흰쥐 대뇌피질(primary motor cortex, secondary motor cortex, primary somatosensory cortex, secondary somatosensory cortex, primary cingulate cortex, secondary cingulate cortex, insular cortex, retrosplenial cortex, ectorrhinal cortex, perirhinal cortex, auditory cortex, visual cortex, pisiform cortex) 영역에서 NADPH-d는 조직화학법으로 nNOS, NPY 및 VIP는 면역조직화학법으로 염색성을 측정 한 후 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. NADPH-d의 염색성은 任意穴자침군과 비교하여 足三里자침군과 曲池자침군은 전 영

역에서 유의한 차이가 있었으며, 足三里자침군과 曲池자침군 사이에는 motor1, sensory2, cingulate2, insular, perirhinal, visual cortex에서 유의한 차이가 있었다.

2. nNOS 염색성은 任意穴자침군과 비교하여 足三里자침군은 auditory, visual, piriform cortex를 제외한 전 영역에서, 曲池자침군은 auditory, piriform cortex를 제외한 전 영역에서 유의한 차이가 있었다. 足三里자침군과 曲池자침군 사이에는 cingulate1, cingulate2, ectorrhinal, visual cortex에서 유의한 차이가 있었다.

3. NPY 염색성은 任意穴자침군과 비교하여 足三里자침군은 cingulate2, insular, pisiform cortex에서, 曲池자침군은 motor1, motor2, sensory1, cingulate2, ectorrhinal cortex에서 유의한 차이가 있었다.

4. VIP의 염색성은 任意穴자침군과 비교하여 足三里자침군은 motor1, auditory cortex를 제외한 전 영역에서, 曲池자침군은 sensory1, insular, ectorrhinal, perirhinal, visual, pisiform cortex에서 유의한 차이가 있었다. 足三里자침군과 曲池자침군 사이에는 cingulate1, cingulate2, retrosplenial, auditory cortex 영역에서 유의한 차이가 있었다.

## VI. 참고문헌

1. 김창환, 김용석, 허영범, 유진화. 電鍼刺戟이 SHR 흰쥐 大腦의 NADPH-diaphorase와 Neuropeptide Y 神經細胞에 미치는 影響. 대한침구학회지. 1999; 16: 283-291.
2. 손낙원, 원란, 손영주, 김용석, 박영배. 電鍼

- 刺戟에 의한 흰쥐 中樞神經系내 代謝活性 變化의 映像化 研究. 대한침구학회지. 2001 ; 18(3):56-68.
3. 최민섭, 고희균, 김창환. 경혈 및 경락의 객 관화에 대한 소고. 대한침구학회지. 1991 ; 8(1) : 71-83.
  4. Kenneeth K, Kwong JW, Belliveau DA, Inna E, Goldberg RM, Weisskoff BP, Poncelet DN, Kennedy BE, Hoffel MS, Hong MJ, Thomas J. Bruce L. Rosen: Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1992 ; 89 : 5675-5679.
  5. Lee JH, Beitz AJ. The distribution of brain-stem and spinal cord nuclei associated with different frequencies of electroacupuncture analgesia. Pain. 1993 ; 52 : 11-28.
  6. 김이화, 김연정, 임백빈, 장미현, 정주호, 김창주. 耳鍼이 絶食시킨 흰쥐의 뇌신경세포 활성변화에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2001 ; 18(1) : 21-28.
  7. 김준태, 남상수, 김용석, 이재동, 최도영, 고희균, 안병철, 박동석, 강성길, 김창환, 이윤호. 저빈도 전침의 자극 시간에 따른 중추 신경계 신경세포의 활성화와 파형에 따른 뇌간의 serotonin 성 신경세포의 활성변화에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1999 ; 16(3) : 349-366.
  8. 김준태, 이재동, 이윤호. 저빈도 전침의 파형에 따른 중추신경계 신경세포의 활성화와 Serotonin 성 신경세포의 활성변화에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1999 ; 16(2) : 403-422.
  9. 안춘재, 최도영, 안병철. 저빈도 전침자극의 파형에 따른 Catecholamin성 신경세포의 활성변화에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1999 ; 16(2) : 385-401.
  10. 이정현, 김이화, 이은용. 이침자극이 절식 Stress 로 인한 흰쥐의 대뇌피질의 NADPH-diaphorase에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2001 ; 18(2) : 79-90.
  11. 이혜정, 신형철, 진수희, 손양선, 윤동학, 임사비나. 족삼리의 전침자극이 흰쥐의 중추 신경계에서 Interleukin-6의 활성화에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2000 ; 17(4) ; 41-50.
  12. 정희철, 한미정, 박상균, 안성훈, 김경식, 손인철. 침자극에 의해 유도되는 norepinephrine 과 serotonin의 증가가 NO의 생성에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1999 ; 16(3) : 367-378.
  13. Kim YS, Kim C, Kang MJ, Yoo JH, Huh Y. Electroacupuncture-related changes of NADPH-diaphorase and neuronal nitric oxide synthase in the brainstem of spontaneously hypertensive rats. Neurosci Lett. 2001 ; 312 : 63-66.
  14. 김종인, 김용석, 김창환. 電鍼刺戟이 Spontaneously Hypertensive Rat의 大脳 胼質, 뇌줄기, 小腦 部位의 Nitric Oxide Synthase 神經細胞에 미치는 影響. 대한 침구학회지. 2001 ; 18 : 116-124.
  15. 조성규, 김창환, 김용석. 電鍼刺戟이 흰쥐 대뇌피질의 NADPH-diaphorase와 NPY에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2002 ; 19 : 95-106.
  16. 정인기, 김창환. 足三里 配穴에 따른 電鍼 이 흰쥐 대뇌피질의 NADPH-diaphorase와 nNOS, NPY, VIP 神經細胞에 미치는 影響.

- 대한침구학회지. 2003 ; 20 : 118-132.
17. 고희균. 흰쥐에서의 骨度分寸에 의한 相應穴位. 대한침구학회지. 1999 ; 16 : 115-122.
  18. Vincent SR, Kimura H. Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. *Neuroscience* 1992 ; 46 : 755-784.
  19. Dawson TM, Brecht 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. USA.* 1991 ; 88 : 7797-7801.
  20. Paxinos G, Watson C. *The Rat brain in Stereotaxic Coordinates.* 3rd ed., Academic Press, San Diego, CA, 1997.
  21. 손영주, 원란, 정혁상, 김용석, 박영배, 손낙원. 電鍼刺戟에 의한 흰쥐 中樞神經系內 代謝活性 變化的 映像化 研究. 대한침구학회지. 2001 ; 18 : 56-68.
  22. Brecht DS, Snyder SH. Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron.* 1992 ; 8 : 3-11.
  23. Brecht DS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Ann Rev Biochem.* 1994 ; 63 : 175-195.
  24. Giatgen A. The dual role of nitric oxide in islet  $\beta$ -cell. *New Physiol Sci.* 1999 ; 14 : 49-53.
  25. Bucinskaite V, Lunderberg T, Stenfors C, Ekblom A, Dahlin L, Theodorsson E. Effects of electro-acupuncture and physical exercise on regional concentration of neuropeptide in rat brain. *Brain Res.* 1994 ; 666 : 128-132.
  26. Cho ZH, Chung SC, Jones JP, Park JB, Park HJ, Lee HJ, Wong EK, Min BI. New findings of the correlation between acupoints and corresponding brain cortices using functional MRI. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998 ; 95 : 2670-2673.
  27. Monda M, Viggiano A, Sullo A, Deluca V. Nitric oxide reduces hypophagia induced by threonine free diet in the rat. *Brain Res.* 1998 ; 808 : 129-133.
  28. Koh JY, Choi DW. Vulnerability of cultured cortical neurons to damage by endotoxins, Differential susceptibility of neurons containing NADPH -diaphorase. *J Neurosci.* 1993 ; 8 : 2153-2163.
  29. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric Oxide: Physiology, Pathology and Pharmacology *Rev.* 1991 ; 43 : 109-142.
  30. Schulman EM, Madison DV. The intercellular messenger nitric oxide is requires for long term potentiation. *Science.* 1991 ; 254 : 1503-1506.
  31. Shibuki K, Okada D. Endogenous nitric oxide release required for long-term synaptic depression in the cerebellum. *Nature.* 1991 ; 249 : 326-328.
  32. Feldman PL, Griffith OW, Sheuhr DJ. The surprising life of nitric oxide. *Chem Eng News.* 1993 ; 26-38.
  33. Brecht DS, Glatt CE, Hwang PM, Fotuhi M, Dawson TM, Snyder SH. Nitric oxide synthase protein and mRNA are discretely localized in neuronal populations of the mammalian CNS together with NADPH diaphorase. *Neuron.* 1991 ; 7 : 615-624.



34. Lamas S, Marsden PA, Li GK, Tempst P, Michel T. Endothelial nitric oxide synthase: molecular cloning and characterization of a distinct constitutive enzyme isoform. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996 ; 89 : 6348-6352.
35. Montecot C, Rondi-Reing L, Springhetti V, Seylaz J, Pinard E. Inhibition of neuronal (type 1) nitric oxide synthase prevents hyperaemia and hippocampal lesions resulting from kainate-induced seizures. *Neuroscience*. 1998 ; 84 : 791-800.
36. Xie QW, Cho HJ, Calaycay J, Mumford RA, Swiderek KM, Lee TD, Ding A, Trosco T, Nathan C. Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages. *Science*. 1992 ; 256 : 225-228.
37. Hope BT, Michael GJ, Knigge KM, Vincent SR. Neuronal NADPH diaphorase is a nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci*. 1991 ; 88 : 2811-2814.
38. Morris BJ, Simpson CS, Mundell S, Maceachern K, Johnston HM, Nolan AM. Dynamic changes in NADPH-diaphorase staining reflect activity of nitric oxide synthase: evidence for a dopaminergic regulation of striatal nitric oxide release. *Neuropharmacology* 1997 ; 36 : 1589-1599.
39. Mclean KJ, Jarrott B, Lawrence AJ. Neuropeptide Y gene expression and receptor autoradiography in hypertensive and normotensive rat brain. *Mol Brain Res*. 1996 ; 35 : 249-259.
40. Bucinskaite V, Theodorsson E, Crumpton K, Stenfors C, Ekblom A, Lunderberg T. Effects of repeated sensory stimulation (electroacupuncture) and physical exercise (running) on open field behavior and concentrations of neuropeptides in the hippocampus in WKY and SHR rats. *Eur J Neurosci*. 1996 ; 8 : 382-387.
41. Laemle LK, Cotter JR. Immunocytochemical localization of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in the brain of the little brown bat (*Myotis lucifugus*). *J Neurocytol*. 1988 ; 17 : 117-129.
42. Morrison JH, Magistretti PJ, Benoit R, Bloom FE. The distribution and morphological characteristics of the intracortical VIP-positive cell. An immunohistochemical analysis. *Brain Res*. 1984 ; 292 : 269-282.
43. Zang X, Yuan Y, Kuang P, Zhang F, Liu J. Effect of acupuncture on vasoactive intestinal peptide in ischemic cerebrovascular disease. *J Tradit Chin Med* 1997 Dec ; 17(4) : 289-293.
44. Dawidson I, Angmar-Mansson B, Blom M, Theodorsson E, Lundeberg T. Sensory stimulation (acupuncture) increases the release of vasoactive intestinal polypeptide in the saliva of xerostomia sufferers. *Neuropeptides* 1998 Dec ; 32(6) : 543-548.
45. 임종국. 鍼灸治療學. 서울. 集文堂, 1986 ; 278-279, 304-305, 319-320.
46. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室 編著. 鍼灸學. 서울. 集文堂. 1988 ; 53-55.
47. Xiong K, Li H, Wang T. Origin of NOS positive nerve fibers at zusanli area in rats. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za*

- Zhi 1998 Apr ; 18(4)230-232.
48. Yu Y, Fang JQ, Guo SY, Asano K, Kasahara T, Hisamitsu T. Antipyretic action of peripheral stimulation with electroacupuncture in rats. *In Vivo*. 1998 Sep-Oct ; 12(5) : 503-510.
49. Zhou RX, Wu B, Zhou MS. Effect of acupuncture on interleukin-2 level and NK cell immunoactivity of peripheral blood of malignant tumor patients. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 1994 Sep ; 14(9) : 537-9.