

CFA로 유도한 관절염에서 選穴에 따른 電鍼의 진통효과 차이

양범식¹ · 구성태¹ · 김경식¹ · 손인철¹

¹원광대학교 한의과대학 경혈학교실

Differential effect of electroacupuncture analgesia depending on the point selection in a rat model of CFA-induced arthritis

Bum-Sik Yang¹, Sung-Tae Koo¹, Kyoung-Sik Kim¹, In-Cheul Sohn¹

¹Dept. of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

Abstract

Objective : In the present study, the effect of electroacupuncture (EA) applied to several acupoints and non-acupoint in CFA-induced knee arthritis was examined.

Methods : A common source of persistent pain in humans is arthritis. Arthritis was induced by injection of CFA 125 μ l into knee joint cavity under enflurane anesthesia. The rat subsequently showed swelling of the ankle and a reduced stepping force of the affected limb for the next several days. The reduced stepping force of the limb was presumably due to a painful knee. EA was applied to either of LR₂, LI₄, or non-acupoint on the contralateral forelimb for 30 min under gaseous anesthesia. After the termination of EA, behavioral tests measuring stepping force were periodically conducted during the next 4 h.

Results : EA applied to LR₂ point produced a significant improvement of stepping force of the affected foot lasting for at least 2 h. However, neither LI₄ point nor non-point produced any significant increase of weight bearing force. The improvement of stepping pressure was interpreted as an analgesic effect. The analgesic effect was specific to the acupuncture point since the analgesic effect on CFA-induced knee arthritic pain model could not be mimicked by EA applied to a point, LI₄ or non-acupoint. In addition, both NO production and iNOS protein expression increased by arthritis were suppressed by EA applied to LR₂ point.

Conclusion : These data suggest that EA produces a potent analgesic effect in the rat model of CFA-induced knee arthritis. This analgesic effect is produced by applying EA to an acupoint at opposite side from the painful area in a stimulus point-specific way.

Key words : Electroacupuncture, analgesia, CFA-induced arthritis

· 교신저자 : 손인철, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의과대학
경혈학교실, Tel. 063-850-6448, Fax. 063-857-6458,
E-mail : ichsohn@wonkwang.ac.kr

· 접수 : 2005/02/28 · 수정 : 2005/03/16 · 채택 : 2005/03/22

I. 서 론

침술은 한의학의 대표적인 치료방법 중의 하나로서 동양은 물론이고 서양에서도 鍼灸의 이용이 점차 증가하고 있는 추세이다. 최근에 미국 국립보건원(NIH)에서는 수술 후 욕지기, 화학요법으로 인한 욕지기, 수술 후 치통, 약물 중독, 뇌졸중 재활, 천식 같은 질환에서 침의 효과를 부분적으로 인정하였으며¹⁾, 영국 의학 협회에서도 침의 사용을 승인하였다²⁾. 아울러 질병의 치료를 위해서 침에 관심이 집중되면서 침의 효과와 그와 관련된 기전을 밝히려는 연구도 활발히 진행되고 있다.

그 가운데 침의 치료 기전에 대한 연구 중에서 가장 활발히 연구가 진행되고 있는 분야가 침의 진통효과에 대한 연구이다. 이러한 연구를 통해서 알려진 결과 중에서 중요한 점은 電鍼으로 유도된 진통효과가 부분적으로 opioid 길항제인 날록손(naloxone)에 의해서 차단된다는 것이다. 이러한 사실은 내인성 모르핀계가 부분적으로 電鍼으로 유도되는 진통작용을 매개한다는 것을 시사한다^{3,4)}. 게다가 날록손에 의해 길항되는 물질이 電鍼 자극의 주파수에 의존적인 것으로 보인다^{5,6)}. 각각 다른 주파수에서 電鍼의 영향은 서로 다른 아종(subtype)의 모르핀 수용체에 의해서 매개되었다^{7,8)}. 그러나 이러한 결과가 발표되었지만 어떻게 내인성 모르핀 계통이 침 자극에 의해서 활성화 되는지에 대한 기전은 아직까지 명확하지 않다.

침의 효과 기전에 대한 기존 연구의 문제점은 주로 건강한 동물에 온도 자극을 주어 이에 대한 회피반응을 보이는 시간을 진통효과의 척도로 삼았다는 점이다. 침은 병리적인 상태에서 맞는 것이기 때문에 이러한 생리적 상태의 동물모델로서는 선혈의 근거가 없기 때문에 침의 고유한 특성을 정확히 재현하기가 어렵다. 이러한 문

제를 해결하기 위해서는 병태모델에서 선혈 원칙에 따라 혈을 선택하여 그 효과를 살펴보아야 한다.

이에 본 연구에서는 만성통증 모델로서 널리 사용되고 있는 Complete Freund's Adjuvant (CFA)를 무릎 관절강에 직접 주입하여 유발시키는 관절염 모델을 사용하였으며, 오수혈 중에 榮穴이 신혈을 다스리기 때문에 泄肝火, 涼血熱, 清下焦, 熄風陽하는 혈성이 있어서 肝機能障礙, 肝腫大, 水腫, 子宮炎, 頭痛, 眩暈, 綠內障, 肋間神經痛, 辜丸炎, 腸疝痛, 月經過多, 小兒驚風, 盜汗, 足底痛 등에 사용⁹⁾하는 足厥陰肝經의 榮穴인 行間을 사용하여 選穴에 따라서 진통효과가 달라지는지를 알아보고자 행동검사법을 실시하였고, 선혈에 따른 전침 자극이 척수에서 통증을 매개하는 물질 중의 하나인 NO와 iNOS 발현에 어떠한 차이가 있는지 검사하였다. 그 결과, 몇 가지 견해를 얻게 되어 다음과 같이 보고하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물로는 대한실험동물센터(대전)에서 구입한 수컷 Sprague-Dawley (6주령, 170-190g)가 사용되었으며, 원광대학교 한의과대학에서 사육되었다. 동물은 온도 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 10\%$ 의 조건에서 12시간 주기로 주야를 바꿔 주면서(야간 사이클: 오전 8:00~ 오후 8:00) 한 케이지에 3-4마리씩 soft bedding으로 사육하였다. 동물들은 실험 시작하기 전 적어도 5일간동안 이러한 환경에서 적응하면서 사육되었다. 실험하기 전 및 실험 기간에 동물들은 사료와 물을 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다.

2. 관절염 모델 유발

관절염은 Enflurane(Ilsung pharmaceuticals, Soeul, Korea)과 O₂로 혼합된 마취상태에서 쥐의 오른쪽 무릎 관절강 내로 125 μ l의 Complete Freund's Adjuvant(CFA, 250 μ g의 heat-killed Mycobacterium butyricum 함유)를 주입하여 유발시켰다. CFA는 Incomplete Freund's Adjuvant(Difco, Detroit, MI, USA) 4 ml에 Mycobacterium butyricum(Difco, Detroit, MI, USA) 16 mg을 용해시킨 후 생리식염수 4 ml과 혼합하여 만들었으며, 사용 시 잘 혼합하여 주입하였다. 주입 후 마취를 중단하였으며, 수술 받은 쥐들은 모두 5~10분 후에 마취에서 회복되었다.

3. 電鍼 자극

전침자극은 가스 마취 상태에서 이루어졌다. 직경 0.25mm, stainless-steel 재질의 한 쌍의 침(동방침구제작소, 충남)을 건측에서 행간, 합곡, 비경혈점을 선택하여 삽입하였다. 동물에서 자침은 사람의 경혈 자리에 상응하는 부위에 자침하였다. 비경혈은 2번째 중족골과 3번째 중족골 사이에서 본절 후 1 cm 되는 곳에 자침하였다. 침은 pulse generator(Grass S88 stimulator; Grass Medical Instruments, Quincy, MA, USA)에 연결되어 1ms duration, 4 pulse의 train(1ms의 정사각파, 100 Hz의 intra-train frequency)이 출력되었다. 실험하는 동안 사각파의 주파수(frequencies)는 2Hz를 사용하였으며, 강도(intensity)는 2 mA(muscle twitch threshold의 10배정도의 강도로써, muscle twitch threshold는 보통 200 μ A 근방이다)의 자극강도를 사용하였다. 양극(+,-)은 전극의 분극(polarization)을 막기 위해 1분마다 역전되었다. 電鍼 처치가 끝난 즉시 마취는 중단되었으며 5~10분 내에 쥐들은 완전히 깨어나 정상적으로 활동하

기 시작하였다. 자극하는 동안 파형의 변화는 오실로스코프를 통하여 관찰하였다.

4. 동물행동 테스트

동물행동 테스트는 CFA로 관절염을 유발시킨 후 1주일 이 지나서 뒷발로 딛게 된 후 검사하였고, 동물행동 테스트를 마치고 전침 자극을 주었다. 통증 정도를 측정하기 위해서 관절염이 유도 된 후의 바닥을 딛는 힘을 측정하였다. 동물을 투명한 아크릴로 만든 긴 통로(폭 10 cm, 높이 10 cm, 길이 60 cm)를 자유스럽게 걷게 하고, 통로 바닥의 절반에 전자저울(Acculab, Pocket pro 250-B, Newton, PA, USA)을 설치하여 한 쪽 발이 디디는 압력만을 측정하였다. 전자저울에서 나오는 전기신호는 압력의 변화를 전압의 변화로 보여주는데 이를 CED(1401 plus)에 연결하여 spike 2 프로그램(Cambridge Electronic Design Ltd, UK version 4.12)으로 전압의 변화를 관찰하였다. 발이 딛는 압력(Weight Bearing Force; WBF)은 총 회복률(Maximum Full Recovery; MFR)로 변환하여 측정값으로 사용하였는데 이는 다음과 같은 공식으로 구하였다.

$$\text{MFR} = (\text{電鍼 자극 후 증가한 WBF} / \text{관절염으로 감소한 WBF}) \times 100$$

모든 행동검사는 각 측정 시간마다 3회 실시하여 평균값을 취하여 측정값을 얻었으며 행동검사는 맹검법으로 시행하였다.

5. 단백질의 분리 및 정제

척수에서 iNOS 단백질 발현을 측정하기 위하여 대조군, CFA 유발 관절염 실험군 및 관절염에 전침 자극을 한 실험군의 동물들을 chloralhydrate 250 mg/kg으로 마취하고 pH 7.4의 phosphate buffered saline (PBS) 용액으로 심장

관류하여 혈액을 제거한 후 재빨리 척수를 박리하였다. 박리된 척수는 dry-ice powder에 신선하게 얼려 사용할 때까지 -80°C 에 보관하여 놓았다. 보관된 척수에 homogenization buffer 3 ml을 가하여 homogenizer로 3회(15초 같고 10초 쉬는 행위를 3회 반복) 균질화시킨 후, $3,000 \times g$ 로 10분 동안 원심분리시켰다. 상층액을 분리하여 ependorf tube에 담아서 사용할 때까지 -80°C 에 저장하여 놓았다. 이 시료는 iNOS, nNOS 단백질을 분석하기 위해 사용되었다. 이 시료를 4°C 에서 $13,000 \times g$ 로 10분 동안 2회 원심분리시킨 후 상층액을 분리하여 ependorf tube에 담아서 사용할 때까지 -80°C 에 저장하여 놓았다.

6. 산화질소 정량

척수조직내 산화질소(NO) 생성량을 측정하기 위하여 Griess 시약을 이용하여 안정된 마지막 산물인 NO_2^- 와 NO_3^- 에 대해서 분석하였다.

간단히 기술하면, 각 샘플 40 μl 와 MOPS buffer(50 mM MOPS/1mM EDTA, pH 7.0) 45 μl 를 혼합하고 reconstituted Escherichia coli nitrate reductase(500 μl MOPS buffer에 1 unit nitrate reductase가 용해된 농도) 5 μl 를 가한 후 2 mM NADH 10 μl 를 가하여 20분 동안 실온에서 반응시킨다. 그 후 50 μl Griess reagent A(1% sulfanilamide in 3N HCl)와 짧게 반응시키고, 50 μl Griess reagent B(0.1% N-(1-naphthyl)ethylenediamine, 2HCl)와 혼합하여 실온에서 5분간 반응시킨 후, purple azo dye가 생성되면 30분 이내에 microtiter plate reader를 이용하여 540 nm에서 흡수율을 측정하였다. nitrite 농도의 표준곡선은 NaNO_2 로부터 계산되었다.

7. Western blot 분석

단백질 blotting을 위하여 보관하여 놓은 단백

질 시료를 5배 농축된 SDS sample buffer(1× 125 mM Tris-HCl, pH 6.8, 2% SDS, 5% glycerol, 0.003% bromophenol, 1% β -mercaptoethanol)와 섞어서 98°C 에서 5분간 끓인 후 10,000 rpm에서 5~10초간 원심분리한다. 그 후 샘플들을 polyacrylamide gel에 걸어서 electrophoresis를 한다. 그리고 polyvinylidene difluoride membrane에 electrotransfer시킨다. Membrane은 실온에서 blocking buffer (TBS-T에 5% skim milk, 10% NaH_2PO_4 를 포함)에 blocking을 하고, anti-iNOS antibody를 1:1,000으로 하여 1시간 동안 반응시킨 후 4°C 에서 밤새 incubation한다. Membrane을 TBS-T로 3번 10분씩 washing한 후, 실온에서 alkaline phosphatase-conjugated secondary antibody(Anti-rabbit IgG)와 2시간 동안 반응시키고 TBS-T로 3번 10분씩 washing한다. Develop은 실온에서 NBT/BCIP solution (Sigma, St. Louis, LO, USA)에 5분 동안 반응시켜 발색하였다.

8. 통계처리

데이터는 Mean \pm SEM으로 나타내었다. 통계검사는 Dunnett's post-hoc test에 의한 one way repeated measure Analysis of Variance (ANOVA)로 하였다. p값이 0.05보다 작으면 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

III. 결 과

1. 行間 電鍼이 CFA 유도 관절염 통증에 미치는 영향

行間 電鍼이 CFA로 유도한 관절염 통증에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험 동물에 電鍼 자극을 주어 電鍼을 주기 전과 후의 WBF (weight bearing force)를 측정하였다. 電鍼의

CFA로 유도한 관절염에서 選穴에 따른 電鍼의 진통효과 차이

증가된 달는 힘은 최대로 회복될 수 있는 양의 약 39 % 정도에 해당한다.

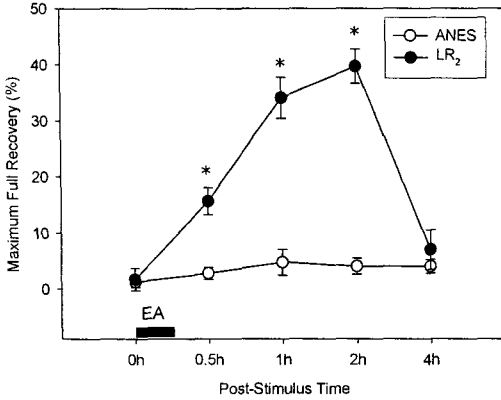


Fig. 1. Effect of electroacupuncture (EA) applied to LR₂ on weight bearing of the limb in rats with CFA-induced arthritis.

Figure shows the average values (\pm SEM) in maximum full recovery ratio after EA stimulation in 8 rats. EA applied to the LR₂ point produced a significant improvement of weight bearing, lasting for about 2 h. Statistical analyses were run by the one-way repeated measures ANOVA followed by the Duncan's multiple comparison. Symbol * denote values significantly different ($P < 0.05$) from the pre-stimulus value (0 h).

효과는 8 마리를 한 군으로 하여 조사하였다.

WBF에 미치는 電鍼의 영향을 검사하기 위하여 enflurane 가스 마취 (산소와 enflurane 1.0 % 혼합가스) 상태에서 30 분 동안 건측 행간에 電鍼 자극을 주었다. 電鍼 자극을 중단하고 난 후 정해진 측정 시간에 반복하여 WBF를 측정하였다. 감소된 발을 달는 힘이 電鍼 자극을 중단하고 난 30분, 1시간, 2시간 후에 行間을 자극한 군에서 부분적으로 회복되었다 (Fig.1). Fig.1에서 볼 수 있듯이, 行間 자침군에서는 電鍼 자극 후 30분, 1시간, 2시간에서 감소되었던 WBF가 유의하게 증가하였다. 電鍼 자극으로 인하여

2. 合谷 電鍼이 CFA 유도 관절염 통증에 미치는 영향

이전 실험에서 행간이 CFA 유도 관절염 통증에 대해서 진통효과를 나타내는 것을 확인하였다. 전침의 진통효과가 합곡에서도 나타나는지 알아보았다. 실험 동물에 관절염 통증을 유발시키고 합곡에 電鍼 자극을 주어 電鍼을 주기 전과 후의 WBF(weight bearing force)를 측정하였다. WBF에 미치는 電鍼의 영향을 검사하기 위하여 enflurane 가스 마취 (산소와 enflurane 1.0 % 혼합가스) 상태에서 30 분 동안 건측에 電鍼 자극을 주었다. 電鍼 자극을 중단하고 난 후 정해진 측정 시간에 반복하여 WBF를 측정하였다. 합곡 자극 후에는 CFA로 유발된 관절염으로 인하여 감소된 발을 달는 힘의 변화가 나타나지 않았다(Fig.2).

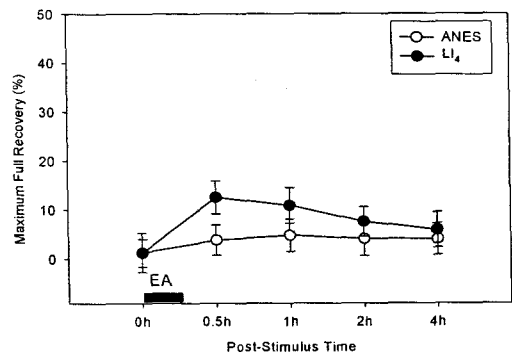


Fig. 2. Effect of EA applied to LI₄ on weight bearing of the limb in rats with CFA-induced arthritis.

Figure shows the average values (\pm SEM) in maximum full recovery ratio after EA stimulation in 8 rats. EA applied to the LI₄ point did not produce any significant improvement of weight bearing.

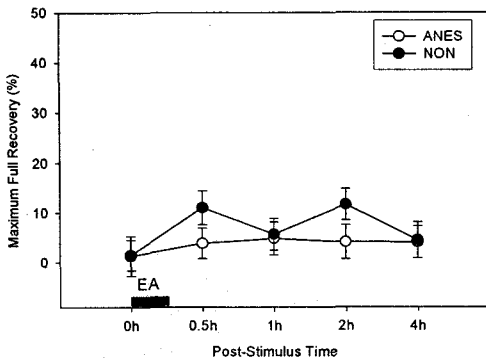


Fig. 3. Effect of EA applied to non-acupoint on weight bearing of the limb in rats with CFA-induced arthritis.

Figure shows the average values (\pm SEM) in maximum full recovery ratio after EA stimulation in 8 rats. EA applied to the non-acupoint located in the dorsal surface of the foot did not produce any significant improvement of weight bearing.

3. 비경혈 電鍼이 CFA 유도 관절염 통증에 미치는 영향

이전 실험에서 행간 전침 자극에서는 유의한 효과를 관찰하였고, 합곡 전침 자극에서는 의미 있는 변화를 관찰하지 못하였다. 이러한 효과의 차이가 자극하는 앞발자극과 뒷발자극의 차이에서 올 수 있으므로, 전측 뒷발 발등에서 비경혈을 선택하여 전침 자극을 한 후 통증에 대한 영향을 관찰하였다. 실험 동물에 관절염 통증을 유발시키고 비경혈점에 電鍼 자극을 주어 電鍼을 주기 전과 후의 WBF(weight bearing force)를 측정하였다. WBF에 미치는 電鍼의 영향을 검사하기 위하여 enflurane 가스 마취 (산소와 enflurane 1.0 % 혼합가스) 상태에서 30 분 동안 電鍼 자극을 주었다. 電鍼 자극을 중단하고 난 후 정해진 측정 시간에 반복하여 WBF를 측정하였다. Fig. 3에 보이는 것처럼, 비경혈점 자극 후에 관절염으로 인하여 감소된 Weight bearing

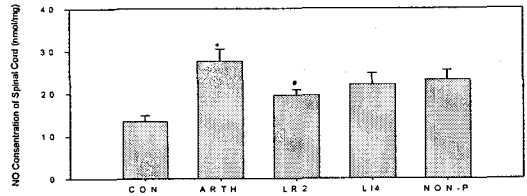


Fig. 4. Effect of EA on the nitrite/nitrate levels of spinal cord in the different experiment groups.

NO production on the spinal cord was measured by Griess reaction assay method as described in the Methods section. Arthritis group was not performed any other treatment except for water administration. Control group did not apply any other treatment. Data are expressed as mean \pm SEM.

* $p < 0.05$, compared with the untreated control group.

$p < 0.05$, compared with the arthritis control group. CON; control group. ARTH; CFA-induced arthritis group, LR2; EA applied to LR₂ point group, LI4; EA applied to LL₄ group, NON-P; EA applied to non-acupoint.

force에 유의한 변화가 나타나지 않았다.

4. 관절염 동물의 척수에서 NO 분석

슬관절강 내 CFA를 주입함으로써 유발된 관절염 모델에서 경혈과 비경혈에 전침 자극을 한 후 2시간 뒤에 척수에서 NO를 분석하여 관절염에 의한 NO 발현의 증가 여부와 이에 대한 전침의 영향을 알아보았다. 모든 동물은 CFA 주입으로 관절염이 유도된 후 환측 하지의 weight bearing이 현저하게 감소한 상태에서 조직을 채취하였다. 정상동물과 관절염동물 및 관절염 유도 후 전침 자극을 한 동물들의 척수에서 NO를 분석해 본 결과, 관절염 동물은 정상동물에 비해 NO가 유의하게 증가하였으며, 행간에 전침 자극을 한 동물의 조직은 관절염 동물에 비해 NO

CFA로 유도한 관절염에서 選穴에 따른 電鍼의 진통효과 차이

가 유의하게 감소하였다. 합곡 전침 자극군이나 비경혈점 자극군은 관절염군과 통계적으로 유의한 차이가 없었으며, 행간 자극군과 합곡 자극군, 비경혈점 자극군 사이에서도 유의한 차이는 없었다(Fig. 4).

5. 관절염 동물의 척수에서 iNOS 단백질에 대한 Western blot 분석

슬관절강 내 CFA를 주입함으로써 유발된 관절염 모델에서 경혈과 비경혈에 전침 자극을 한 후 2시간 뒤에 척수에서 iNOS 단백질을 분석하여 관절염에 의한 iNOS 단백질 발현의 증가 여부와 이에 대한 전침의 영향을 알아보았다. 모든 동물은 CFA 주입으로 관절염이 유도된 후 환측 하지의 weight bearing이 현저하게 감소한 상태에서 조직을 채취하였다. 정상동물과 관절염동물 및 관절염 유도 후 전침 자극을 한 동물들의 척수에서 iNOS를 분석해 본 결과, 관절염 동물은 정상동물에 비해 iNOS가 유의하게 증가하였으며, 행간에 전침 자극을 한 동물의 조직은 관절염 동물에 비해 iNOS가 유의하게 감소하였다. 합곡 전침 자극군이나 비경혈점 자극군은 관절염군과 통계적으로 유의한 차이가 없었으며, 행간 자극군과 합곡 자극군, 비경혈점 자극군 사이에서도 유의한 차이는 없었다(Fig.5).

IV. 고 찰

CFA를 무릎 관절강에 주입하여 유발시킨 관절염 모델에서 선혈에 따른 電鍼의 鎮痛效果를 알아보았다. 관절통 및 관절염을 연구하기 위해서 사람의 염증상태를 모방하여 다양한 동물모델을 이용하여 왔다^{10,11)}. CFA 유발 관절염 모델은 만성 관절염의 일반적인 특징을 많이 가지고 있기 때문에 많이 사용하는 동물모델로서 여러

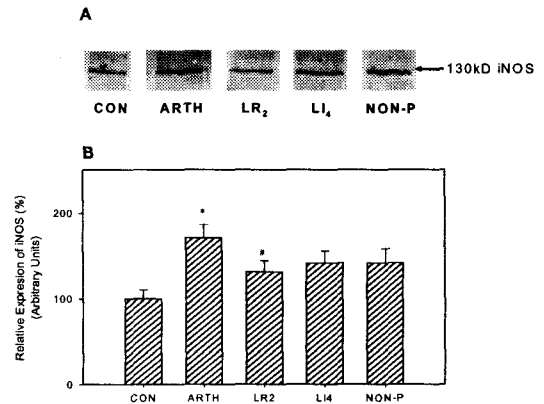


Fig. 5. Western blot(A) and densitometric(B) analysis of iNOS expression in the spinal cord samples from the several groups. Arthritis group was not performed any other treatment except for enflurane anesthesia. Control group did not apply any other treatment. The iNOS signal was enhanced in the sample from the CFA-induced arthritis when compared with that from the untreated control group and attenuated in the samples from EA applied to LR₂ when compared with that from the arthritis control group. However, there was no significant difference between the EA stimulated groups. Each lane was loaded with 60 μ g protein. Data are expressed as mean \pm SEM. * p<0.05, compared with the untreated control group. # p<0.05, compared with the arthritis group. CON; control group. ARTH; CFA-induced arthritis group, LR₂; EA applied to LR₂ point group, LI₄; EA applied to LI₄ group, NON-P; EA applied to non-acupoint.

편의 논문들이 이 모델이 만성 통증을 나타냄을 이미 밝힌 바 있다^{12,13)}. 무릎 관절강내에 CFA를 편측으로 주입하면 수 시간 내에 주입한 쪽에 hyperalgesia가 발생하게 된다. 이러한 hyperalgesia는 adjuvant 주입 후 8주간이나 지속된다고 한다¹⁴⁾. Adjuvant 유도성 관절염 모델은 만성 관절염에 대한 신약의 항염 및 진통작용을 분석하기 위해 광범위하게 이용되어지고 있다

12)

본 논문에서는 CFA 주입으로 유발된 염증성 통증에 대한 계측기준(parameter)으로서 손상된 무릎의 동측 발이 디디는 압력의 변화를 측정하였다. 손상된 무릎의 동측 발이 디디는 압력 변화는 류마티스 관절염의 특징인 관절의 무능력을 잘 반영할 수 있는 방법이며, 무릎 관절의 운동성에 대한 개선을 전반적으로 예측할 수 있는 방법이다. 그러므로 CFA 유발 슬관절염 동물모델은 만성 통증에 대한 전침의 진통기전을 연구하는데 유용할 것이다.

관절염이 유발된 동물에게 행간 전침을 구강으로 투여한 결과, 전침은 관절염에 의해 감소된 stepping force를 유의하게 개선시킨다는 것을 알 수 있으며, 전침이 적어도 2시간 동안 지속되는 진통효과를 발생시킨다는 것을 증명했다. 이로써 전침이 만성 슬관절염에 진통효과를 나타낸다고 이야기 할 수 있다.

본 연구에서는 실험 시 자침 후 手技를 대신하여 電鍼療法과 刺鍼理論중의 하나인 巨刺法을 사용하여 行間, 合谷, 비경혈점을 選穴하여 刺鍼하였다. 電鍼療法^{15,16)}은 穴位部에 자침하여 手技法에 의한 침감응의 기계적 자극을 득한 후, 침병에 적당한 전류를 통과시키는 전기적 자극을 결합시킨 치료법으로서, 최초로 1825년 Sarlandiere가 신경계통질환체 電鍼을 사용하였고, 최근에는 Huang¹⁷⁾ 등이 각종 질환 치료에 응용하였을 뿐만 아니라 마취분야에 까지 도입하여 자침에 관한 학술적 이론을 발전시키는 데 이바지하였다.

巨刺法은 健側에 자침하는 방법으로 “素問 調經論” “素問 繆刺論”에서 언급되기 시작하였으며, 針灸大成에서 “巨刺者經脈, 繆刺者絡脈, 所以別也. 岐伯曰 痛在於左而右脈病者 則巨刺之. 邪客於經 左盛則右病 右盛則左病 亦有移易者 左

痛未已 以右脈先病 如此者 必巨刺之 必中其經 非經絡也.” 라고 하여 繆刺法과 비교하여 설명¹⁸⁾하였다. 이는 통증이나 표부에 존재하는 질병치료에 있어 환부를 기준으로 인체를 좌우로 나누어 건측에 대하여 자침하는 것으로 임상에서 통증질환에 多用되고 있다.

본 실험에서는 行間, 合谷을 사용하였는데 足厥陰肝經의 榮穴인 行間(LR₂)은 泄肝火, 涼血熱, 清下焦, 熄風陽하는 혈성이 있어서 주로 肝機能障礙, 肝腫大, 水腫, 子宮炎, 頭痛, 眩暈, 綠内障, 肋間神經痛, 辜丸炎, 腸疝痛, 月經過多, 小兒驚風, 盜汗, 足底痛 등에 주로 활용하며, 經絡에서 四肢逆冷과 寒疝小腹腫을 治療한다⁹⁾.

手陽明大腸經의 原穴인 合谷(LI₄)은 虎口, 含口, 合骨이라고도 불리며, 發表解熱, 疏風解表, 清泄肺氣, 通降腸胃, 鎮痛安神, 通經活絡하는 성질이 있어서 임상에서 偏頭痛, 齒痛, 顏面神經麻痺, 眼充血, 鼻炎, 鼻塞面腫, 腸痛, 消化不良, 吐瀉, 落胎或安胎, 肩痛, 四肢痲痺, 汗多, 無汗, 中風, 口眼喎斜, 三叉神經痛, 蕁麻疹, 高血壓 등에 널리 활용되고 있다. 아울러 四總穴 중의 하나로써 口面疾患에 널리 쓰인다⁹⁾.

실험동물에서 위와 같은 경혈을 선택한 이유는 임상 상 널리 활용되고 있는 각종 질환에 치료효과가 우수한 경혈이라는 점에서 그리고 十二經脈에서 十二經脈表裏 相傳, 上下相傳, 六經同氣相通 등의 上下內外的 相異한 部位에 對應性이 있으므로 서로 銜接(表裏接經, 上下接經, 通經)에 依해 患部經과 銜接하는 經을 取한다는 이론적 기초 하에서 선택하였고 아울러 실험동물에서 해부학적으로 위치가 가장 사람과 비슷한 부위에서 選穴을 할 수 있는 혈이라는 점도 선택하는데 고려의 대상이었다.

五俞穴은 十二經脈의 각각 井, 榮, 俞, 經, 合의 5개 穴을 指稱하는 것으로 모두 臨床에 활용

CFA로 유도한 관절염에서 選穴에 따른 電鍼의 진통효과 차이

성이 높고 효과가 좋으며 肘膝關節部以下에 있기 때문에 取穴 및 使用하기가 편리하며 모두 60개 穴로 구성되어 있다. 그 중 榮穴은 水成小流로 經脈稍大를 形容한 것으로 十二經脈의 急流處로서 急激한 發熱 高熱을 처치하며 循環器疾患으로 오는 發熱, 原發性 神經痛, 熱病으로 인해 色과 관련된 疾患(皮膚의 色이 變하면서 생긴 疼痛)의 發病初期에 사용한다.

慢性痛症에서 침의 진통효과에 대한 연구를 살펴보면, 통증을 관리하기 위하여 점점 침이 널리 활용되고 있지만, 침 치료가 플라시보 효과나 위-자침 또는 일반적인 다른 치료법보다 더 우수하다는 결론은 내리지 못하고 있다¹⁹⁾. 침이 광범위하게 널리 쓰이고 있으면서도 그 효과에 대해서 아직까지 결론이 내리지 않은 가장 주된 이유는 침이 효과가 있다는 것을 보여주는 객관적인 연구가 충분하지 않고, 침의 효과에 관여하는 기전에 대한 생리학적 기전이 충분히 밝혀지지 않았기 때문이다. 침의 진통효과에 대해서도 마찬가지로, 침의 진통효과 기전을 밝히려는 시도는 침이 효과를 발휘하는 기전을 이해하는데 도움을 주는 것은 물론이고 학문적으로 침의 효과 영역을 확장시키는데도 도움을 줄 것이다. 침의 기전을 이해하는 연구에서 가장 기본적인 면서도 중요한 첫 걸음은 좋은 실험 동물모델에서 그 효과를 보여주는 것이다.

지금까지 발표된 침의 진통효과에 대한 연구를 살펴보면, 몇 가지 실험 동물 모델들이 침의 진통효과를 알아보기 위하여 사용되었다. 이러한 연구에서 사용된 모델을 살펴보면, 열자극에 대한 마우스의 회피반응^{3,5,20)}, 흰쥐에서 냉자극⁸⁾이나 열자극²¹⁻²³⁾에 대한 꼬리 회피 반응, 그리고 토끼에서 열자극에 대한 머리 회피 반응^{24,25)}을 사용하여 침의 진통효과를 관찰하였다. 그러나 이런 모든 모델은 상해자극에 대한 회피행동을

측정한 것으로 정상 상태의 동물에 위해자극을 줌으로써 순간적으로 유도된 위해자극에 대한 반응을 관찰한 것이다. 이러한 모델에서 관찰한 것은 통증 상태 하에서 나타나는 진통이 아니라 항위해효과(antinociceptive effect)인 것이다. 원래 침은 병이나 통증이 있는 환자에게 치료를 목적으로 놓는 것이기 때문에 정상 실험동물에서 보여진 효과는 엄밀한 의미에서 침의 진통효과라고 보기 어렵다. 이는 급성 통증과 만성 통증에 관여하는 기전이 완전히 다르기 때문^{26,27)}이다. 그러므로 통증이 존재하는 상태에서 침의 진통효과를 잘 나타내는 만성 통증 모델을 사용하는 침 연구가 필요하다.

현재 침의 진통기전에 대하여 많은 연구가 진행되고 있으며 자극부위의 미소순환 개선효과²⁸⁾, 관문조절설²⁹⁾, 중추를 중개로 하는 endorphin 과 같은 체액성인자^{4,30)}의 관여 등 다양한 내용들이 제시되고 있다. 최근의 연구 결과들을 살펴보면, Takeshige 등³¹⁾은 경혈에 가한 저주파 자극이 serotonin 중개 노선과 noradrenergic 중개 노선으로 나누어지는 descending inhibitory system에 작용하여 진통작용을 형성함을 밝혔으며, Jiang³²⁾은 이러한 과정 중 somatic sensory area II가 NRM에 존재하는 흥분성 신경세포를 흥분시킨다고 하였다. 침의 진통기전과 관련된 가장 일반적이고 유명한 가설 중 하나는 소위 말하는 “Endogenous Opioid” 가설이다. 이 가설은 침자극이 Endogenous Opioid System을 활성화시켜 순환하는 endorphin 양을 증가시킨다고 주장한다. 이러한 주장을 뒷받침해주는 증거는 마우스 또 사람에게 Opiate antagonist인 Naloxone을 주입하고 침자극을 주면 침에 의해 발생하는 진통효과가 상쇄된다는 것이다^{3,4)}.

더욱이 Naloxone에 의한 電鍼의 차단은 자극주파수(Frequency)에 의존적이라는 것이 발표

되었다^{3,33}). 그리고 서로 다른 진동수에서 전침 효과는 다른 형태의 opiate receptor에 의해 매개된다^{7,8,23}). 또한 세로토닌성, 노르아드레날린성 통증억제시스템이 침의 진동에 추가적인 역할을 하고 있다는 것이 나중에 밝혀졌다^{20,34}). 한편, 다른 연구들은 토끼²⁵), 쥐^{21,35}) 및 사람^{36,37})에서 電鍼에 의해 유발된 진통효과를 Naloxone이나 Naltrexone과 같은 Opiate antagonist로 상쇄시키지 못했다. 더욱이 Opiate antagonist는 때때로 쥐에서 電鍼에 의한 진통을 가능하게 하기도 한다^{21,22}). 그러므로 電鍼에 의해 유발된 진통효과가 Endogenous Opioid에 의해 매개되는지의 여부는 계속 연구되어야 할 부분이라고 사료된다.

CFA로 유발한 관절염에서 행간 전침이 척수에서 NO 생성과 iNOS 발현에 미치는 영향을 알아보았다. Fig. 4, 5에서처럼, 행간 전침 자극은 NO와 iNOS 발현을 억제하였다. iNOS는 칼슘 비의존성으로 원래 사이토카인에 의해 자극된 대식세포에서 발견되며, 다른 두 형태의 NOS보다 염증과 더욱 밀접한 관계에 있다. 독성을 나타낼 수 있는 양의 NO를 생산할 수 있는 NOS가 바로 iNOS이다. Adjuvant 유도성 관절염 동물에서 iNOS에 대한 immunoreactivity가 synovial tissue에서 나타난다고 한다³⁸). iNOS 선택적 억제제인 aminoguanidine과 N-iminoethyl-L-lysine은 adjuvant 관절염과 관련된 혈장 및 관절액에서 nitrite를 농도 의존적으로 억제시킬 수 있었다. iNOS는 또한 central sensitization과 관련있다고 증명되었다. iNOS 선택적 억제제는 발바닥내 Zymosan을 주입하여 발생한 thermal hyperalgesia를 농도 의존적으로 억제할 수 있다³⁹). iNOS 선택적 억제제인 aminoguanidine은 thermal hyperalgesia를 차단시킬 수 있다⁴⁰). 척수에서 iNOS는 정상 동물

및 adjuvant 관절염 동물에서 ependymal cell layer와 central canal 주위에 있는 ependymal cell의 process에 분포하고 있다고 보고되었다⁴¹). Ependymal cell은 CNS에 있는 glial cell의 일종으로, 면역 및 염증반응에 관여한다. Hyperalgesia를 발생시키는 많은 말초자극들은 사이토카인과 같은 가용성 신호전달물질을 방출하여 척수나 뇌에 종결하고 있는 말초신경을 활성화시킨다. 말초 자극은 척수에서 glial cell들을 활성화시킬 수 있다⁴²). 척수의 glial cell은 사이토카인, NMDA 효현제, NO를 방출시킬 수 있다⁴¹). iNOS의 발현은 주로 전사단계에서 조절된다. 그러므로 말초염증이 있으면 이러한 인자들은 말초 뿐만 아니라 CNS에 있는 iNOS의 발현에 영향을 미칠 수 있다. Central canal을 둘러싸고 있는 부위는 serotonin⁴³), SP^{44,45}), glutamic acid decarboxylase⁴⁶), vasoactive intestinal polypeptide⁴⁷), calcitonin gene-related peptide⁴⁸)와 같은 여러 신경화학물질들을 유의성 있는 농도로 함유하고 있는 곳이다. Ependymal cell들은 central canal 근처에서 방출되는 물질에 의해 활성화된 후 iNOS를 상향조절한다.

본 연구는 만성 슬관절염을 유발한 후 전침 실험군, 마취만 처치한 대조군에서 척수의 iNOS 발현양을 분석하였다. 그 결과 정상 동물들에 비해 마취만 처치한 관절염 동물의 척수에서의 iNOS가 유의성 있게 증가되었으며, 전침 실험군은 관절염으로 인해 척수에서 증가된 iNOS를 유의성 있게 억제시켰다. 만성 관절염에서 척수의 iNOS 증가는 염증에 의해 central sensitization 및 hyperalgesia가 발생하였다는 것을 의미하며, 전침을 자극한 후 염증에 의해 증가된 iNOS 단백질의 발현이 감소되었다는 것은 만성 관절염 모델에서 전침이 위의 과정을 억제함으로써 진통효과를 나타냈다는 것을 의미

한다.

교세포는 CNS를 지지해주는 역할을 하고 있지만 glutamate에 반응을 할 수 있게 하고 NO를 합성할 수 있다. 여기서 glutamate는 nNOS를 활성화시켜 NO를 생성시킬 수 있는 물질로서 iNOS와 nNOS의 발현에 공통적으로 관여하는 물질이다. 전침이 관절염모델에서 glutamate를 억제시킬 수 있다면 iNOS와 nNOS의 억제현상을 동시에 설명하는 것이 가능할 것이다. 이것 또한 차후 실험을 해서 밝혀야 할 사항이다. 이외에도 전침이 관절염에 의해 증가된 iNOS를 억제시키는 기전에 대해서는 더 연구를 해야 할 것이다. 그리고 만성 슬관절염이 유도된 후 슬관절에 병리학적 변화가 생기는데^{38,49}, 이러한 치료들이 슬관절에 병리변화에 어떤 영향을 미치는지에 대해서는 더욱 연구가 되어야 한다.

NO는 CFA 유발 슬관절염 모델에서 말초 염증에 의해 발생된 central sensitization 및 hyperalgesia와 밀접하게 관련되어 있다고 전술하였다. iNOS와 nNOS는 각각 다른 기전을 통하여 NO 합성에 기여하고 있다. iNOS와 nNOS를 차단하면 CFA 슬관절염에서의 통증을 막거나 제거할 수 있을 것이며, 이는 임상에서 관절염에도 적용되는 것이다.

CFA 유발 슬관절염 동물모델의 척수에서 관절염에 의해 증가된 NO에 대해 전침이 미치는 영향을 알아본 결과, 전침이 관절염에 의해 증가된 NO를 억제시킬 수 있으며, 만성 관절염에서 전침의 진통작용은 NO와 관련이 있음을 알 수 있었다. 그리고 척수에서 iNOS 단백질을 분석한 결과, CFA 유발 슬관절염에서 전침이 관절염에 의해 증가된 iNOS를 억제시키며, 이는 만성 관절염에서 전침의 진통작용은 iNOS와 관련이 있음을 알 수 있었다.

V. 결 론

慢性痛症 실험모델로서 CFA로 유발한 관절염 모델을 사용하여 選穴에 따른 電鍼 刺戟의 鎮痛效果를 살펴본 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. CFA로 유발한 관절염 모델에서 건측의 足厥陰經 行間 자침이 진통효과를 발휘하였다. 이 효과는 電鍼 자극 후 2 시간 동안 지속되었다.
2. CFA로 유발한 관절염 모델에서 건측의 합곡 자침이나 발등의 비경혈 자침은 유의한 진통효과를 보이지 않았다.
3. CFA로 유발한 관절염 모델에서 건측의 行間 자침은 동물모델의 척수에서 증가된 NO의 양을 감소시켰다.
4. CFA로 유발한 관절염 모델에서 행간 자침은 척수에서 증가된 iNOS의 발현을 유의하게 억제하였다.

CFA로 유발한 관절염 모델에서 건측의 行間 전침 자극은 진통효과를 나타내었고 선혈에 따라 경혈의 위치에 특이적이었다. 앞으로 다양한 병태모델을 활용하여 본 연구에서 얻은 결과를 확인하는 작업이 필요할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. NIH Consensus Development Panel. Acupuncture. JAMA. 1998 ; 280 : 1518-24.
2. Silvert M. Acupuncture wins BMA approval. BMJ. 2000 ; 321(7252) : 11.
3. Pomeranz B, Chiu D. Naloxone blockade of acupuncture analgesia: endorphin implicated. Life Science. 1976 ; 19 : 1757-62.
4. Mayer DJ, Price DD, Rafii A. Antagonism of acupuncture analgesia in man by the

- narcotic antagonist naloxone. *Brain Res.* 1977 ; 121 : 368-72.
5. Cheng RSS. Electroacupuncture analgesia could be mediated by at least two pain-relieving mechanisms; endorphin and non-endorphin systems. *Life Science.* 1979 ; 25 : 1957-62.
 6. Sjölund BH, Eriksson MBE. The influence of naloxone on analgesia produced by peripheral conditioning stimulation. *Brain Research.* 1979 ; 173 : 295-301.
 7. Chen XH, Han JS. Analgesia induced by electroacupuncture of different frequencies is mediated by different types of opioid receptors: another cross-tolerance study. *Behav Brain Res.* 1992 ; 47 : 143-9.
 8. Chen XH, Geller EB, Adler MW. Electrical stimulation at traditional acupuncture sites in periphery produces brain opioid-receptor-mediated antinociception in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 1996 ; 277 : 654-60.
 9. 전국한의과대학 침구경혈학교실편. 鍼灸學 (上). 서울 : 集文堂. 1988 : 159-60, 323, 443, 445, 586, 391-2, 666.
 10. Mapp PI, Walsh DA, Garrett NE, Kidd BL, Cruwys SC, Polak JM, Blake DR. Effect of three animal models of inflammation on nerve fibres in the synovium. *Ann Rheum Dis.* 1994 ; 53 : 240-6.
 11. Donaldson LF, Seckl JR, Mcqueen DS. A discrete adjuvant-induced monoarthritis in the rat-effects of adjuvant dose. *J Neurosci Methods.* 1993 ; 49 : 5-10.
 12. Colpaert FC. Evidence that adjuvant arthritis in the rat is associated with chronic pain. *Pain* 1987 ; 201-2.
 13. Besson JM, Guilbaud G. The arthritic rat as a model of clinical pain, Amsterdam : Excerpta Medica, 1988.
 14. Philippe L, Gegout-Pottie P, Guingamp C, Bordji K, Terlain B, Netter P, Gillet P. Relations between functional, inflammatory and degenerative parameters during adjuvant arthritis in rats. *Am J Physiol.* 1997 ; 273 : R1550-6.
 15. 朱子揚, 黃芸. 實用鍼灸新醫療法大全. 香港 : 得利書局. 1975 : 48, 99, 227-8.
 16. 馮天蔭. 電鍼灸治療學. 香港 : 商務印書館. 1976 : 1-4.
 17. Huang Guangting et al. Investigation on the mechanism of acupuncture for treating perforation of peptic ulcer-animal experimentation. *Advances in acupuncture and acupuncture anesthesia.* tiantan Xili Beijing China : the people's medical publishing house. 1980 : 78.
 18. 楊維傑著(대전대학교 韓醫科大學譯). 鍼灸經緯解釋. 서울 : 一中社. 1995.
 19. Ezzo J, Berman B, Hadhazy VA, Jadad AR, Lao L, Singh BB. Is acupuncture effective for the treatment of chronic pain? A systematic review. *Pain.* 2000 ; 86 : 217-25.
 20. Cheng RSS, Pomeranz B. Monoaminergic mechanism of electro acupuncture analgesia. *Brain Res.* 1981 ; 215 : 77-92.
 21. Bossut DF, Huang ZS, Sun SL, Mayer DJ. Electroacupuncture in rats: evidence for naloxone and naltrexone potentiation of analgesia. *Brain Res.* 1991 ; 549 : 36-46.
 22. Das S, Chatterjee TK, Ganguly A, Ghosh JJ.

CFA로 유도한 관절염에서 選穴에 따른 電鍼의 진통효과 차이

- Role of adrenal steroids on electroacupuncture analgesia and on antagonising potency of naloxone. *Pain*. 1984 ; 18 : 135-43.
23. Chen XH, Han JS. All three types of opioid receptors in the spinal cord are important for 2/15 Hz electroacupuncture analgesia. *Eur J Pharmacol*. 1992 ; 211 : 203-10.
24. Han JS, Zhou Z-F, Xuan YT. Acupuncture has an analgesic effect in rabbits. *Pain*. 1983 ; 15 : 83-91.
25. McLennan H, Gilfillan K, Heap Y. Some pharmacological observations on the analgesia induced by acupuncture in rabbits. *Pain*. 1977 ; 3 : 229-38.
26. Dubner R, Ruda MA. Activity-dependent neuronal plasticity following tissue injury and inflammation. *Trends in Neurosci*. 1992 ; 15 : 96-103.
27. Woolf CJ, Doubell TP. The pathophysiology of chronic pain - increased sensitivity to low threshold A β -fibre inputs. *Current Opinion in Neurobiology*. 1994 ; 4 : 525-34.
28. 민병일, 김독곤 역. 동양의학의 과학적 접근과 임상. 서원당. 1993 : 17, 163-205.
29. Merzack R, Wall PD. Pain mechanism, a new theory. *Science*. 1965 ; 150 : 971-9.
30. Lianfang He et al. Possible involvement of opioid peptides of caudate nucleus in acupuncture analgesia. *Pain*. 1985 ; 23 : 83-93.
31. Takeshige C, Sato T, Mera T, Hisamitsu T, Fang J. Descending pain inhibitory system involved in acupuncture analgesia. *Brain Res Bull* 1992 ; 29 : 617-34.
32. Jiang M, Liu X. The control of somatosensory area II on the descending inhibitory pain activity of nucleus raphe magnus. *Chen Tzu Yen Chiu*. 1993 ; 18(1) : 33-6.
33. Sjölund BH, Eriksson MBE. The influence of naloxone on analgesia produced by peripheral conditioning stimulation. *Brain Research* 1979 ; 173 : 295-301.
34. Mayer DJ. Biological mechanisms of acupuncture. *Prog Brain Res*. 2000 ; 122 : 457-77.
35. Koo ST, Park YI, Lim KS, Chung K, Chung JM. Acupuncture analgesia in a new rat model of ankle sprain pain. *Pain*. 2002 ; 99(3) : 423-31.
36. Chapman CR, Colpitts YM, Benedetti C, Kitaeff R, Gehrig JD. Evoked potential assessment of acupunctural analgesia: attempted reversal with naloxone. *Pain* 1980 ; 9 : 183-97.
37. Chapman CR, Benedetti C, Colpitts YH, Gerlach R. Naloxone fails to reverse pain thresholds elevated by acupuncture: acupuncture analgesia reconsidered. *Pain* 1983 ; 16 : 13-31.
38. Cannor JR, Manning PT, Settle SL, Moore WM, Jerome GM, Webber RK, Tjoeng FS, Currie MG. Suppression of adjuvant-induced arthritis by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase. *Eur J Pharmacol*. 1995 ; 273 : 15-24.
39. Murray CW, Cowan A, Larson AA. Neurokinin and NMDA antagonists (but not a kainic antagonist) are antinociceptive in the mouse formalin model. *Pain*. 1991 ; 44 : 179-85.
40. Meller ST, Dykstra C, Grzynbycki D, Murphy S, Gebhart GF. The possible role of glia in nociceptive processing and hyperalgesia in

- the spinal cord of the rat. *Neuropharmacol.* 1994 ; 33 : 1471-8.
41. Wu J, Lin Q, Lu Y, Willis WD, Westlund KN. Changes in nitric oxide synthase isoforms in the spinal cord of rat following induction of chronic arthritis. *Exp Brain Res.* 1998 ; 118 : 457-65.
42. Garrison CJ, Dougherty PM, Kajander KC, Carlton SM. Staining of glial fibrillary acidic protein (GFAP) on lumbar spinal cord increases following sciatic nerve constriction injury. *Brain Res.* 1991 ; 565 : 1-7.
43. Lamotte CC, Johns DR, Lanerolle NC de. Immunohistochemical evidences of indolamine neurons in monkey spinal cord. *J Comp Neurol.* 1982 ; 206 : 359-70.
44. Tessler A, Glazer E, Artymyshyn R, Murray M and Goldberg ME. Recovery of substance P in the cat spinal cord after unilateral lumbosacral denervation. *Brain Res.* 191 : 459-70, 1980.
45. Oldfield BJ, Sheppard A, Nilaver G. A study of the substance P innervation of the intermediate zone of the thoracolumbar spinal cord. *J Comp Neurol.* 1985 ; 236 : 127-40.
46. Barber RP, Vaughn JE, Roberts E. The cytoarchitecture of GABAergic neurons in rat spinal cord. *Brain Res.* 1982 ; 238 : 305-28.
47. LaMotte CC. Vasoactive intestinal polypeptide cerebrospinal fluid-contacting neurons of the monkey and cat spinal central canal. *J Comp Neurol.* 1987 ; 258 : 527-41.
48. Chung K, Lee WT, Carlton SM. The effect of dorsal rhizotomy and spinal cord isolation on calcitonin gene-related peptide-labeled terminals in the rat lumbar dorsal horn. *Neurosci Lett.* 1988 ; 90 : 27-32.
49. Evans CH. Nitric oxide : what role does it play in inflammation and tissue destruction? *Agents Actions.* 1995 ; 47[Suppl] : 107-16.