

心正格的 補穴, 腎正格的 補穴, 心正格的 補穴 配 腎正格的 補穴 및 心正格 刺鍼이 實驗的 腦虛血에 미치는 影響

황문현 · 윤대환 · 나창수

동신대학교 한의과대학 경혈학교실

The Effects of Reinforcing Acupoint of Heart JEONGGYEOK, Reinforcing Acupoint of Kidney JEONGGYEOK, Combination of Reinforcing Acupoint of Heart JEONGGYEOK and Kidney JEONGGYEOK, Reinforcing and Reducing Acupoint of Heart JEONGGYEOK on Focal Ischemia Induced by Inserted Intraluminal Filament in MCA of Rats

Moon-Yeon Hwang, Dae-Hwan Youn, Chang-Su Na

Dept. of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Dongshin University

Abstract

Objectives: The acupuncture has been used as treatment of disease in the oriental medicine. In this study, it was investigated that had an effects of Heart JEONGGYEOK(心正格) of SAAM five evolutive phase acupuncture techniques(舍岩五行鍼法) for applying deficiency in the heart induced by experimental focal ischemia.

Materials and methods: The focal ischemia was induced by middle cerebral artery occlusion for 2hours. The groups divided into 6 groups, normal(intactness group), control(no therapy group after ischemia-induced), AT1(reinforcing acupoint of Heart JEONGGYEOK : acupuncture therapy group at LR1, HT9 after ischemia-induced), AT2(reinforcing acupoint of Kidney JEONGGYEOK : acupuncture therapy group at LU8, KI7 after ischemia-induced) AT3(combination of reinforcing acupoint of Heart JEONGGYEOK and Kidney JEONGGYEOK : acupuncture therapy group at LR1, HT9, LU8, KI7 after ischemia-induced), AT4(reinforcing and reducing acupoint of Heart JEONGGYEOK : acupuncture therapy group at LR1, HT9, HT3, KI10 after ischemia-induced). Acupuncture therapy was carried out during 3 weeks after focal ischemia-induced. Eight-arm radial maze was used for the behavioral task and neuroprotective effect of acupuncture therapy was observed by Cresyl violet, AchE, ChAT-stain.

Results: The error rate in the eight-arm radial maze task was significantly decreased in AT3 group on 3days, in AT1 and AT4 groups on 4days, in AT3 and AT4 groups on 5days compared to the control group. The rate of correct choice was significantly increased AT4 group compared to the control group. The density of neurons in the hippocampal CA1 were significantly increased in all experiment groups, AT1, AT2, AT3 and AT4 groups compared to the control group. The density of AchE in the hippocampal CA1 was significantly increased in AT4 group compared to the control group. The density of ChAT in the hippocampal CA1 were significantly increased in AT1 and AT3 group compared to the control group.

Conclusions: These results suggest that reinforcing and reducing acupoint of Heart JEONGGYEOK could be used as a medication for controlling the stroke by deficiency in the heart.

Key words: reduction of five evolutive phase acupuncture technique, deficiency in the heart, focal ischemia , intraluminal filament in MCA

I. 緒 論

손암鍼法은 《難經》의 이론을 확대 발전시킨 五行鍼法은 병증에 대하여 五行 속성을 갖는 경혈을 선택하여 補瀉를 시행하는 自經補瀉原則에 他經補瀉法을 첨가한 발전된 침자시술법이다^{1,2)}

뇌허혈은 뇌혈관질환의 하나인 뇌졸중에서 가장 많이 나타나는 형태로서, 수초에서 수분간 지속되는 혈류의 감소에 의해 뇌신경세포 손상 발현으로 신체마비, 인식장애, 시각 또는 언어장애 등 심각한 문제를 일으키며, 주로 내경동맥 중 증대뇌동맥의 폐쇄가 가장 큰 원인이 되고 있다^{3,4)}.

한의학에서 中風은 卒然昏倒, 不省人事, 口眼喎斜, 半身不隨, 言語障礙 등을 주증상으로 하는 질병으로서 僵仆, 大闕, 薄厥, 偏枯, 偏風, 身偏不用, 痺風 등으로 표현되어 왔으며⁵⁾, 五行鍼法에서는 心虛로 인한 경우 心正格 등이 활용 된다⁶⁾.

손암鍼法의 補瀉에 관한 실험적 연구로는 신 등⁷⁾은 心經 火穴 少府(HT8)와 肝經 火穴 行間(LR2)에 瀉法 시행으로 백서의 혈압을 감소시켰을, 박 등⁸⁾은 2K1C 高血壓에 대하여 行間-少府 瀉法 鍼刺가 혈압을 하강시켰을, 윤 등⁹⁾은 五行鍼法의 定量的 평가 방법론을 각각 보고하였고, 윤 등¹⁰⁾은 고혈압 모델에 心實瀉 鍼法과 心實瀉 配腎實瀉 鍼法이 혈압을 감소시켰을 보고하였

다.

본 연구에서는 손암五行鍼法 가운데 中風에 활용되는 心正格의 효능을 실험적으로 파악하고자 intraluminal filament로 증대뇌동맥을 폐색시켜 뇌허혈을 유발시키고, 이 모델에 대하여 心正格의 補穴인 大敦과 少衝에 침자한 군, 腎正格의 補穴인 經渠와 復溜에 침자한 군, 心正格의 補穴인 大敦과 少衝 및 腎正格의 補穴인 經渠와 復溜에 침자한 군, 心正格인 大敦, 少衝, 少海, 陰谷등에 침자한 군 등으로 분류하여, 이들을 대상으로 radial arm maze task를 시행하여 뇌의 기억 중추 회복을 평가하고, 또한 뇌조직의 면역조직화학적 기법으로 뇌 부위의 활성도를 평가한 바, 다음과 같은 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 삼육동물센터로부터 구입한 웅성 Sprague Dawley계 흰 쥐(260~300 g)로, 일주일 정도 실험실 환경(온도는 22±3 ℃, 습도는 50±10 %)에 적응시킨 후 사용하였다. 실험동물은 각 cage 당 3~4 마리씩 넣어 두었으며, 물과 사료(고형사료: 실험동물 흰쥐용, 삼양유지[주])를 자유로이 섭취하도록 하였다.

· 교신저자: 나창수 나주시 대호동 동신대학교 경혈학교실, Tel. 061-330-3522

* 이 논문은 한국학술진흥재단의 선도연구자지원사업 (과제번호:2003-041-E00312)의 지원에 의하여 수행되었음

· 투고: 2005/11/24 · 수정: 2005/12/13 · 채택: 2005/12/19

心正格的 補穴, 腎正格的 補穴, 心正格的 補穴 配 腎正格的 補穴 및 心正格 刺鍼이 實驗的 腦虛血에 미치는 影響

2. 실험군의 구성 및 절차

실험군의 분리는 정상군(Normal group ; Normal), ischemia 유발후 무처치군(Control group ; Control), ischemia 유발후 心正格的 補穴 大敦, 少衝 침자군(Acupuncture therapy group in LR1 HT8 ; AT1), ischemia 유발후 腎正格的 補穴 經渠, 復溜 침자군(Acupuncture therapy group in LU8 KI7 ; AT2), ischemia 유발후 心正格的 補穴 大敦, 少衝, 腎正格的 補穴 經渠, 復溜 침자군(Acupuncture therapy group in LR1 HT8 LU8 KI7 ; AT3), ischemia 유발후 心正格 大敦, 少衝, 少海, 陰谷 침자군(Acupuncture therapy group in LR1 HT8 HT3 KI10 ; AT4) 으로 나누었으며, 각 군은 군당 흰쥐 6마리씩 배정하였고, 각 군은 주 2회 3주간 침자를 시행한 다음 1주일간 방사형 미로 학습을 시행하였으며, 마지막 행동검사를 실시한 후 조직검사를 하였다.

3. 취혈 및 침자 시술

침자를 위한 혈위인 大敦(LR1), 少衝(HT9), 經渠(LU8), 復溜(KI7), 少海(HT3), 陰谷(KI10) 취혈은 인체와 상응한 곳에 취하였다. 침자는 鍼刺은 毫鍼(No.3-0.5, 杏林, 한국)을 이용하여 피하에 위치시켰고, 5분간 留鍼하는 동안 60초 간격으로 九六捻轉補瀉, 迎隨補瀉를 시행하였다.

4. Occlusion에 의한 focal ischemia 유발

국소 뇌허혈은 Longa EZ 등¹¹⁾의 방법에 따라 중대뇌동맥을 폐색시켜 만들었다. 실험동물을 70 % N₂/30 % O₂와 혼합된 5 % isoflurane을 이용하여 흡입마취 유도를 한 후 2 % isoflurane으로 계속 유지시켰다. 흰쥐의 직장에 체온측정 probe를 삽입하고 가온등과 가온 매트리스를 이

용하여 실험기간동안 체온을 38 °C로 유지하였다. 중대뇌동맥을 폐색하기 위하여 경부 정중선을 따라 피부를 절개하고 흉골혀근과 흉골저작근 사이에 총경동맥을 노출한 후 내경동맥내로 intraluminal filament(Ø0.28mm, rounded tip)을 삽입하여 그 끝이 중대뇌동맥의 기시부를 지나 전대뇌동맥의 근위부까지 도달하도록 하였다. 총경동맥과 외경동맥은 결찰한 후 혈류차단 2시간이 지난 후 filament를 제거하고 우측 총경동맥을 결찰하여 측부 순환을 통하여 재관류를 시켰다.

5. Eight-arm radial maze task

제작된 8개의 통로가 중앙의 출발영역(central platform)을 중심으로 매 45도(방사형)로 뻗어 나온 형태의 장치를 이용하였다. 중앙 출발 영역은 직경 50 cm인 원에 내접하는 정팔각형 상자로 높이는 25 cm이다. 주로는 출발 상자의 각면에 뚫린 10×25 cm 크기의 통로와 연결되어 있으며, 길이는 70 cm이고 동물이 바깥으로 나가지 못하게 하였다. 주로의 끝에는 보상으로 제공하는 먹이나 물을 담을 수 있는 7×5×3 cm 크기의 용기(음식 접시)가 설치되었다. 실험동물이 주로를 출입하는 행동을 비디오카메라로 녹화하여 백서가 각 주로를 방문한 횟수와 오류 여부를 계산하였다. 실험에 들어가기 전 36시간 동안 사육 상자에서 먹이를 박탈하여 배고픔을 유발시킨 백서를 행동 관찰실로 옮겨와 30분간 환경에 적응시켰다. 백서를 미로의 출발 상자에 넣고 1분간 두어 상황에 적응 시킨 후 1분이 지나면 각 주로로 통하는 통로를 개방하여 백서가 자유롭게 미로 속을 돌아다니게 하였다. 쥐가 주로를 방문하여 끝까지 달리면 보상 용기에서 먹이를 먹게 하였다. 그러나 동일한 주로를 반복해서 방문하면 두 번째 방문부터는 먹이를 제공하지 않

고 반응은 오류로 기록하였다. 백서가 300초 동안에 8개의 주로를 모두 방문하지 못하면 시행을 중지시키고, 그 시행은 실패로 간주하였다. 백서가 5일 동안의 획득시행에서 학습 준거에 도달하는 경우 6일째에 기억을 관찰하는 검사시행을 실시하였다. 검사시행은 4분 동안에 8개의 주로 중 2개의 주로를 택해 들어가면 출발 상자에 다시 넣어 30초 동안 머무르게 한 후 나머지 6개의 주로 중 정선택 수를 관찰하였으며, 같은 주로를 다시 택하거나, 240초가 경과되면 시행을 중지시켰다.

6. Immunohistochemistry

1) Cresyl violet 염색법

모든 행동 실험이 끝난 직후 실험동물을 sodium pentobarbital(100 mg/kg, i.p.)로 마취시킨 후, 0.9 % saline 200 ml에 이어 phosphate buffer으로 준비한 4% formalin 용액(fixative) 800 ml로 심장을 통해 관류하였다. 처음 고정액 200 ml은 2분간 빠른 유속으로, 그리고 나머지 800 ml은 25분간에 걸쳐 천천히 관류하였다. 고정액이 끝난 쥐는 뇌를 꺼내 같은 고정액으로 2시간 동안 후고 정시키고, 20 % sucrose가 함유된 phosphate buffered saline(PBS)에 넣어 4 °C에서 하루 동안 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 뇌조직을 hippocampus 부위를 30 μm의 두께로 자랐다. PBS로 조직을 몇 차례 씻고 xylene(5 min), 100% alcohol(2 min), 95% alcohol(1 min), 70 % alcohol(1 min), DW(2 min)순으로 담가 탈지, 탈수를 시킨 다음 cresyl violet buffer(5 min)로 염색을 하였다. 염색이 끝난 조직은 광학현미경을 사용하여 고배율(×400)에서 신경세포의 밀도를 Scion image program(Scion Corp. MD, USA)을 이용하여 측정하였다.

2) Acetylcholinesterase(AchE) 염색법

뇌 조직을 PBS에 3회 정도 세척한 후 0.1 M sodium hydrogen phosphate buffer(NaH₂PO₄·H₂O, pH6.0) 325 ml에 acetylcholine iodide 250 mg을 녹인 용액에 0.1 M sodium citrate 25 ml, 30mM copper sulfate 50 ml, 5 mM potassium ferricyanide 50 ml, 증류수 50 ml을 넣어 혼합한 후 수초간 기다리면 옅은 녹색을 나타내는데 이때 뇌 조직을 넣고 실온에서 1~2시간 동안 배양하였다. 모든 처리를 거친 뇌 조직을 광학현미경으로 관찰하였다. 200×200 μm 크기의 microscope 4각 격자(rectangle grid)를 사용하여 100배로 확대하여 hippocampus에서 AchE 신경세포의 밀도를 Scion image program(Scion Corp. MD, USA)을 이용하여 측정하였다.

3) Choline acetyltransferase(ChAT) 염색법

뇌 조직을 PBS에 3회 정도 세척한 후 ChAT 유전자 발현 연구에 가장 널리 사용되고 있는 primary sheep polyclonal ChAT antibody(Cambridge Research Biochemical, Wilmington, DE, USA)를 사용하였다. 1차 항체는 PBS에 0.3 % Triton X-100 첨가한 PBST에서 2 % 토끼 혈청과 0.1 % sodium azid(Sigma, St. Louis, MO, USA)로 200배 희석하여 준비하였다. 뇌 조직은 1차 항혈청에 4 °C에서 72시간 동안 지속적으로 흔들어 주면서 배양하였다. 그 후 3번 이상 조직을 PBST로 씻은 다음 2시간 동안 실온에서 2 % 토끼 혈청을 함유하는 PBST에서 200배 희석한 biotinylated anti-sheep serum(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)에 반응시켰다. PBST로 3번 씻은 다음, 뇌 조직은 실온에서 2시간 동안 Vectastain Elite ABC reagent(Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)에 담갔다. PBS로 몇 번 행군 다음 조직을

Table 1. The Number of Incorrect Choice During Testing in the Radial Eight-arm Maze Task

Group	1day	2day	3day	4day	5day	6day
Normal	3.4±0.17*	5.1±0.41	2.1±0.32**	2.1±0.35**	3.2±0.55**	1.2±0.32**
Control	5.4±0.32	5.8±0.17	6.5±0.55	5.7±0.21	5.2±0.22	5.4±0.31
AT1	4.9±0.34	5.1±0.33	3.7±0.12	3.1±0.45*	4.0±0.52	3.9±0.44
AT2	3.9±0.21	3.7±0.43	3.5±0.34	3.3±0.61	3.8±0.47	3.1±0.32
AT3	4.2±0.32	3.7±0.55	3.3±0.61**	4.1±0.20	3.2±0.12**	2.9±0.59
AT4	4.0±0.33	4.6±0.63	3.6±0.33	3.0±0.25**	3.6±0.46*	3.2±0.41

nickel chloride로 강화시키고 착색제로서 diaminobenzidine을 사용하여 발현시켰다. 통제군 조직에는 1차 항체를 생략하거나 nonimmuno sheep serum으로 대체하였는데 이들 두 경우 다 특정 표지가 나타나지 않았다.

모든 처리를 거친 뇌 조직을 gelatine-coated slide에 고정하고 공기를 제거하면서 커버글라스를 덮은 후 광학현미경으로 100배로 확대하여 hippocampus에서 ChAT-immunoreactive 신경세포의 밀도를 Scion image program(Scion Corp. MD, USA)을 이용하여 측정하였다.

7. 통계처리

모든 측정값은 평균값 표준오차(mean±SE)로 표시하였고, 각 실험군간의 통계학적 분석은 Window용 SPSS를 이용하였다. 각 집단간 행동 측정치의 비교는 repeated ANOVA test를 시행하였고, 면역조직화학분석법의 측정값은 one-way ANOVA를 시행하였으며, 사후검정은 Tukey test를 적용하였다. 전체 실험의 통계적인 유의성은 신뢰구간 P<0.05에서 의미를 부여하였다.

Ⅲ. 結 果

1. 방사형 미로 학습의 획득시행동안 주로 오선택 횟수

방사형 미로 학습에서 오선택 수를 측정하는 획득시행 실험에서 대조군은 정상 군에 비하여 높은 수치를 보여주었다. 1일째에 대조군이 5.4±0.32회인 것에 비하여 실험군 모두 유의한 변화가 없었으며, 2일째에 대조군이 5.8±0.17 회인 것에 비하여 감소의 경향은 보였으나 실험군 모두 유의한 변화가 없었으며, 3일째에 대조군이 6.5±0.55 회인 것에 비하여 AT3군이 3.3± 0.61 회로 유의한 감소(P<0.01)를 보였으며, 4일째에 대조군이 5.7±0.21 회인 것에 비하여 AT1군이 3.1±0.45 회(P<0.05), AT4군이 3.0±0.25 회(P<0.01)로 유의한 감소를 보였으며, 5일째에 대조군이 5.2±0.22 회인 것에 비하여 AT3군이 3.2±0.12 회(P<0.01), AT4군이 3.6±0.46 회(P<0.05)로 유의한 감소를 보였으며, 6일째에 대조군이 5.4±0.31 회인 것에 비하여 감소의 경향은 보였으나 실험군 모두 유의한 변화가 없었다.

즉 대조군에 비하여 3일째에는 AT3군이, 4일째에는 AT1, AT4군이, 5일째에는 AT3, AT4군

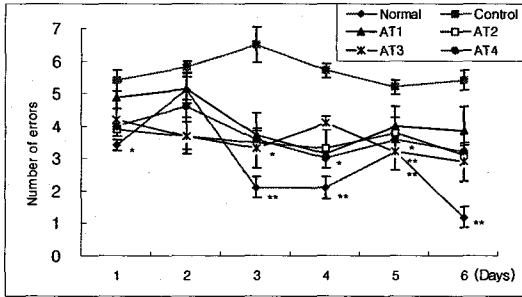


Fig. 1. Effect of acupuncture therapy on the incorrect choice during testing in the radial eight-arm maze task. Acquisition curves of the eight-arm radial maze task in focal brain injury. The task was started on the 4th week after focal brain injury, and performed four trials per day for 6days. Results are shown as mean±SE. Normal, intactness group. Control, no therapy group after ischemia-induced. AC1, acupuncture therapy group at LR1, HT9 after ischemia-induced. AC2, acupuncture therapy group at LU8, KI7 after ischemia-induced. AC3, acupuncture therapy group at LR1, HT9, LU8, KI7 after ischemia-induced. AC4, acupuncture therapy group at LR1, HT9, HT3, KI10 after ischemia-induced. *, P<0.05, **, P<0.01 as compared with the control group.

이 각각 유의한 감소를 나타내었다(Table 1, Fig. 1).

2. 방사형 미로 학습의 검사시행동안 주로 정선택율

방사형 미로 학습에서 정선택율을 측정하는 검사시행에서 정상 군이 85.7±13.33 %로 비교적 높은 정선택율을 보였다. 대조군이 41.7±10.35 %인 것에 비하여 AT1군이 52.8±2.57 %, AT2군이 53.3±6.90 %, AT3군이 47.2±6.19 %, AT4군이 76.7±7.18 %를 나타내었다.

대조군에 비하여 정상군은 유의하게 높은(P<0.05) 정선택율을 보였으며, AT4군도 유의하게 높은(P<0.05) 정선택율을 나타내었다(Fig.

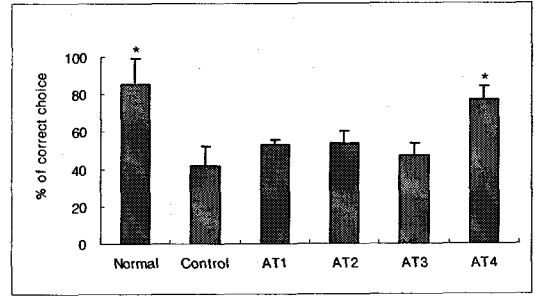


Fig. 2. Effect of acupuncture therapy on the percent of correct choice during testing in the radial eight-arm maze task. The task was started on the 4th week after focal brain injury, and performed four trials per day for 6days. Results are shown as mean±SE. Normal, intactness group. Control, no therapy group after ischemia-induced. AC1, acupuncture therapy group at LR1, HT9 after ischemia-induced. AC2, acupuncture therapy group at LU8, KI7 after ischemia-induced. AC3, acupuncture therapy group at LR1, HT9, LU8, KI7 after ischemia-induced. AC4, acupuncture therapy group at LR1, HT9, HT3, KI10 after ischemia-induced. *, P<0.05, as compared with the control group.

2).

3. Cresyl violet을 이용한 신경세포 손상 방어효과

Hippocampal CA1 부위를 cresyl violet 염색법에 의한 신경세포 손상방어 효과를 관찰한 결과, 정상군이 68.8±1.49 (density), 대조군이 54.9±0.44 (density), AT1군이 58.2±0.89 (density), AT2군이 61.5±1.35 (density), AT3군이 60.6±0.89 (density), AT4군이 64.0±1.53 (density)을 보였다.

대조군에 비하여 정상군은 유의하게 증가(P<0.01)된 밀도를 보였으며, 실험군 중 AT1군(P<0.05), AT2군(P<0.01), AT3군(P<0.01), AT4군(P<0.01) 모두 유의하게 증가된 밀도를 나타내었다(Fig. 3, 4).

心正格的 補穴, 腎正格的 補穴, 心正格的 補穴 配 腎正格的 補穴 및 心正格 刺鍼이 實驗的 腦虛血에 미치는 影響

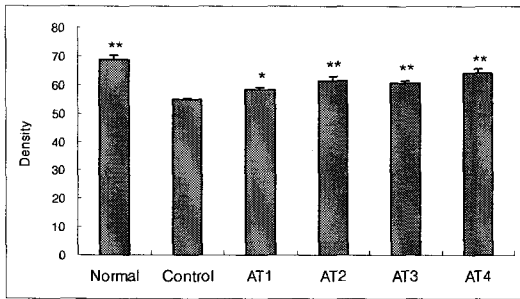


Fig. 3. Effect of acupuncture therapy on the density of cresyl violet in the hippocampal CA1. Results are shown as mean±SE. Normal, intactness group. Control, no therapy group after ischemia-induced. AC1, acupuncture therapy group at LR1, HT9 after ischemia-induced. AC2, acupuncture therapy group at LU8, KI7 after ischemia-induced. AC3, acupuncture therapy group at LR1, HT9, LU8, KI7 after ischemia-induced. AC4, acupuncture therapy group at LR1, HT9, HT3, KI10 after ischemia-induced. *, P<0.05, **, P<0.01 as compared with the control group.

4. Acetylcholinesterase(AchE)발현

Hippocampal CA1 부위의 AchE 발현정도를 관찰한 결과, 정상군이 39.1±4.27 (density), 대조군이 28.7±4.27 (density), AT1군이 32.2±1.48 (density), AT2군이 30.8±1.02 (density), AT3군이 32.4±3.349 (density), AT4군이 37.0±0.75 (density)를 보였다.

대조군에 비하여 정상군은 유의하게 증가(P<0.05)된 밀도를 보였으며, 실험군 중 AT4군이 유의하게 증가(P<0.01)된 밀도를 나타내었다(Fig. 5, 6).

5. Choline acetyltransferase(ChAT)발현

Hippocampal CA1 부위의 ChAT 발현정도를 관찰한 결과, 정상군이 43.9±1.54 (density), 대조군이 28.7±2.35 (density), AT1군이 38.6±1.10 (density), AT2군이 31.5±2.88 (density), AT3군이

이 35.4±1.10 (density), AT4군이 35.5±1.35 (density)를 보였다.

대조군에 비하여 정상군은 유의한 증가(P<0.01)를 보였고, 실험군 중 AT1군과 AT3군에서 유의한 증가(P<0.05)를 나타내었다(Fig. 7, 8).

IV. 考 察

송암五行鍼法은 《難經》의 “瀉南補北”說과 “虛則補其母, 實則瀉其子”의 기본원리를 송암이 “虛則抑其官”, “實則補其官”의 원리를 추가하여 정형을 이룬 鍼法으로, 十二經絡의 五輸穴을 바탕으로 木火土金水 각각의 穴性을 “虛則補其母, 瀉其官”, “實則瀉其子, 補其官”이라는 원칙을 적용하여 補瀉를 시행하는 鍼法이다⁶⁾.

중풍은 다발하는 질병으로 《內經》에 風이 인체를 손상시키면 혹 熱中風하고, 혹 寒中風하고, 혹 癘風하고, 혹 半身不遂한다고 하였으며, 河間은 心火暴甚하고 腎水虛衰하여 制止不能하면 陰虛陽實의 熱氣佛鬱로 心神昏冒, 筋骨不用하며, 卒倒無所知하게 된다고 하였으며, 東垣은 中風이 外部에서 온 風邪가 아니고 基本의 臟氣에서 발병하는데, 年老하거나 憂喜忿怒로 臟氣가 衰하면 中風이 많고, 形盛한데, 氣衰하기 때문에 발현된다고 하였으며, 丹溪는 中風이 氣虛, 血虛, 痰多에 의해서도 발현된다고 하였다¹²⁾.

中風에 대하여 침치료 방법은 다양한데, 송암五行鍼法에서는 그 辨證에 따라 補瀉 穴位를 선정하여 치료를 시행하고 있다. 中風에 言語蹇澀하며, 半身不遂가 나타나고 心虛한 경우이면 心正格을 사용하며, 全身關節에 虎咬의 증세가 있고 腎虛한 경우이면 腎正格을 사용한다고 하였다¹²⁾.

뇌허혈로 유발된 실험적 中風 모델에 대하여 송암五行鍼法의 작용을 실험적으로 접근해보고

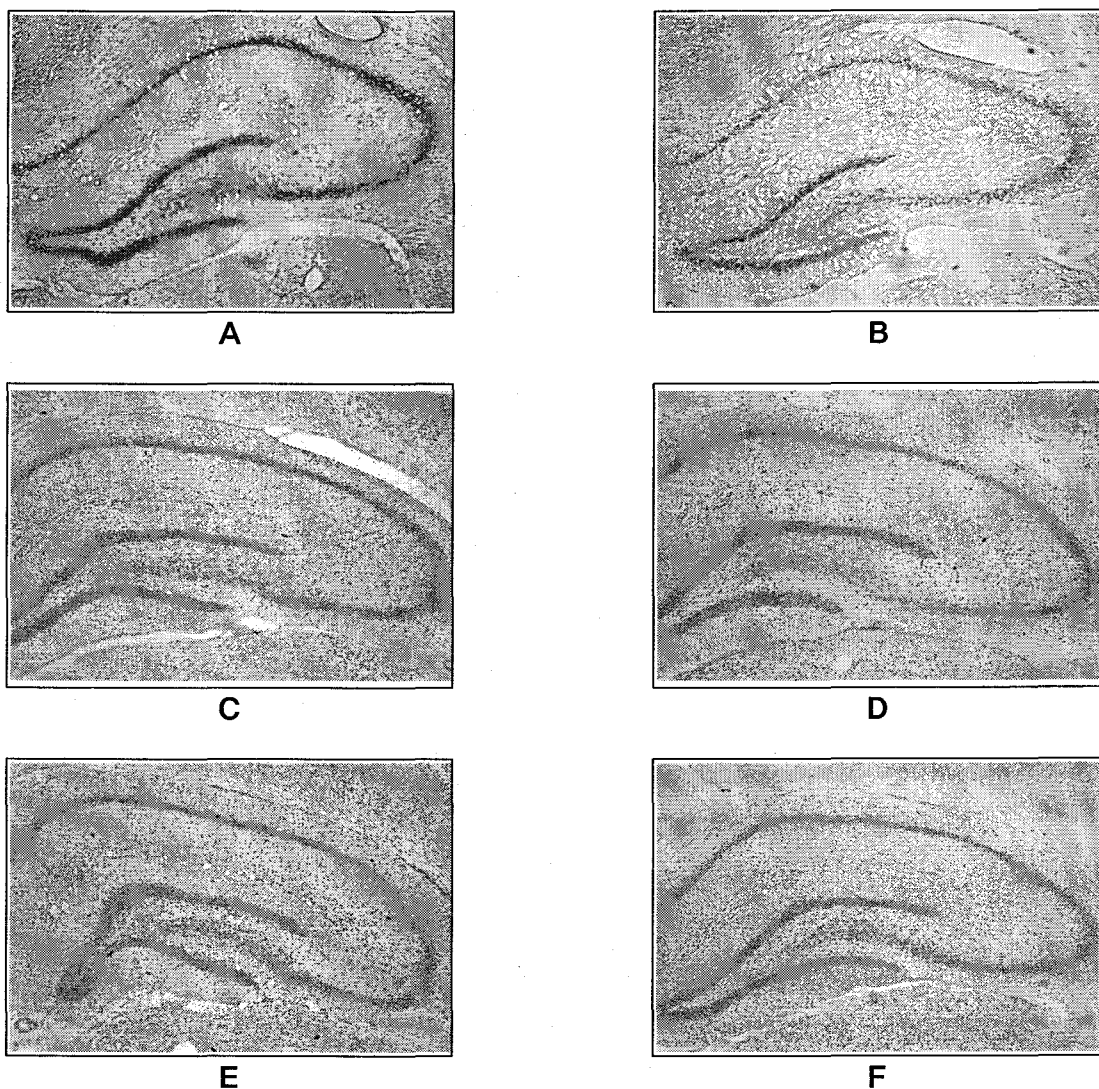


Fig. 4. Representative microphotographs of coronal sections in the hippocampal CA1. A, normal group ; B, control group ; C, AT1 group ; D, AT2 group ; E, AT3 group ; F, AT4 group. Cresyl violet-stain. $\times 400$.

자 하였다. 즉 뇌허혈을 心虛로 보았을 시에 치료 鍼法으로 心正格이 이에 해당되며, 心正格은 大敦少衝補, 陰谷少海瀉이다. 본 연구에서는 心正格의 穴位를 補穴과 瀉穴로 나누어 본 연구에서는 적용해보고자 하였는데, 즉 心正格의 補穴과 瀉穴을 모두 적용한 경우, 心正格의 補穴만 적용한 경우, 心正格의 補穴에 腎正格의 補穴을

配合한 경우, 그리고 腎正格의 補穴만 적용한 경우 등으로 분류하여 발현 양상을 관찰하고자 하였다.

본 연구에서는 오행침법의 혈위 활용에 대하여 실험적으로 접근하고 하여 intraluminal filament로 중대뇌동맥 폐색을 유발시켜 뇌허혈을 유발시키고¹³⁾, 이 모델에 대하여 心正格의 補

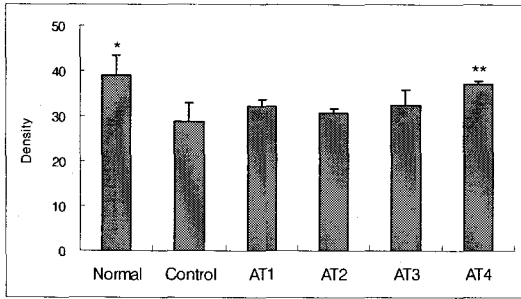


Fig. 5. Effect of acupuncture therapy on the density of AchE in the hippocampal CA1. Results are shown as mean±SE. Normal, intactness group. Control, no therapy group after ischemia-induced. AC1, acupuncture therapy group at LR1, HT9 after ischemia-induced. AC2, acupuncture therapy group at LU8, KI7 after ischemia-induced. AC3, acupuncture therapy group at LR1, HT9, LU8, KI7 after ischemia-induced. AC4, acupuncture therapy group at LR1, HT9, HT3, KI10 after ischemia-induced. *, P<0.05, **, P<0.01 as compared with the control group.

穴인 大敦과 少衝에 침자한 군, 腎正格的 補穴인 經渠와 復溜에 침자한 군, 心正格的 補穴인 大敦과 少衝 및 腎正格的 補穴인 經渠와 復溜에 침자한 군, 心正格인 大敦, 少衝, 少海, 陰谷등에 침자한 군 등으로 분류하여 치법을 시행한 후 행동 평가로서 뇌의 기억 중추 회복을 측정하였고, 또한 뇌조직의 면역조직화학적 기법으로 뇌부위의 활성도를 평가하였다.

방사형미로를 이용한 실험은 Olton DS¹⁴⁾에 의하여 처음 행해졌는데, 미로내 단서, 즉 음식물 단서나 그 외의 냄새 단서 등은 배제된 상태에서 동물은 주로(arm)를 찾아갈 때 오직 미로 외 단서만을 이용하여 과제를 수행해 나가야 하는 방법이며, 이 기법으로 공간기억, 작업기억, 장기기억, 자기중심기억, 단서학습 등을 검사할 수 있다¹⁵⁾.

방사형 미로는 주로 정보가 처리되고 있는 동안에 그것을 유지하는 작업기억을 바탕으로 하

는 학습능력과 기억력을 을 알아보기 위한 장치로 학습을 기억하는 시간범위, 기억의 저장작용을 매개하는 뇌조직 및 약물이 방사형 미로 학습과 기억에 미치는 영향 등에 주로 사용된다.¹⁶⁻¹⁹⁾

본 연구의 방사형 미로 학습에서 오선택 수를 측정하는 획득시행 실험에서 대조군은 정상군에 비하여 높은 수치를 보여주었으며, 실험군 중 心正格 補穴을 선택한 AT1군에서 1일째와 4일째에 유의한 감소를 보여 허혈 상태를 조절하는 작용이 발휘된 것으로 사료된다. 또한 心正格 補穴에 腎正格 補穴을 배합한 AT3군에서 3일째에 유의한 감소를 보여 허혈 상태를 개선하는 작용이 발휘된 것으로 사료되며, 그리고 心正格 補穴과 瀉穴을 적용한 AT4군에서 4일째에 유의한 감소를 보여주어 역시 조절 작용이 발휘된 것으로 사료된다. 본 연구의 뇌허혈성 모델에 대하여 心正格的 補穴을 적용하거나 心正格的 補穴과 瀉穴을 함께 적용하는 것이 뇌허혈을 개선시키는 것으로 사료된다.(Table 1, Fig. 1)

본 연구의 방사형 미로 학습에서 정선택율을 측정하는 검사시행에서 대조군이 41.7±10.35 %인 것에 비하여 心正格 補穴과 瀉穴을 함께 배혈한 군인 AT4군이 76.7±7.18 %를 나타내어 현저한 상승을 보였으며, 이는 정상군의 수준인 85.7±13.33 %에 상당히 근접한 수치를 나타내었다. 즉 心正格 補穴과 瀉穴 침자는 뇌허혈의 상태를 개선함으로써 뇌의 기억중추의 기능을 활성화 하는 작용이 발휘되었음을 시사한다고 사료된다.(Fig. 2)

국소 뇌허혈모델은 흰쥐에 일시적으로 뇌에 공급되는 혈관들을 차단한 후 재 관류하게 되면 주로 hippocampus부분의 신경세포가 손상을 입게 되는데, 5-7일이 경과되면 apoptosis와 비슷한 세포 손상과 인지 및 학습장애를 일으키게

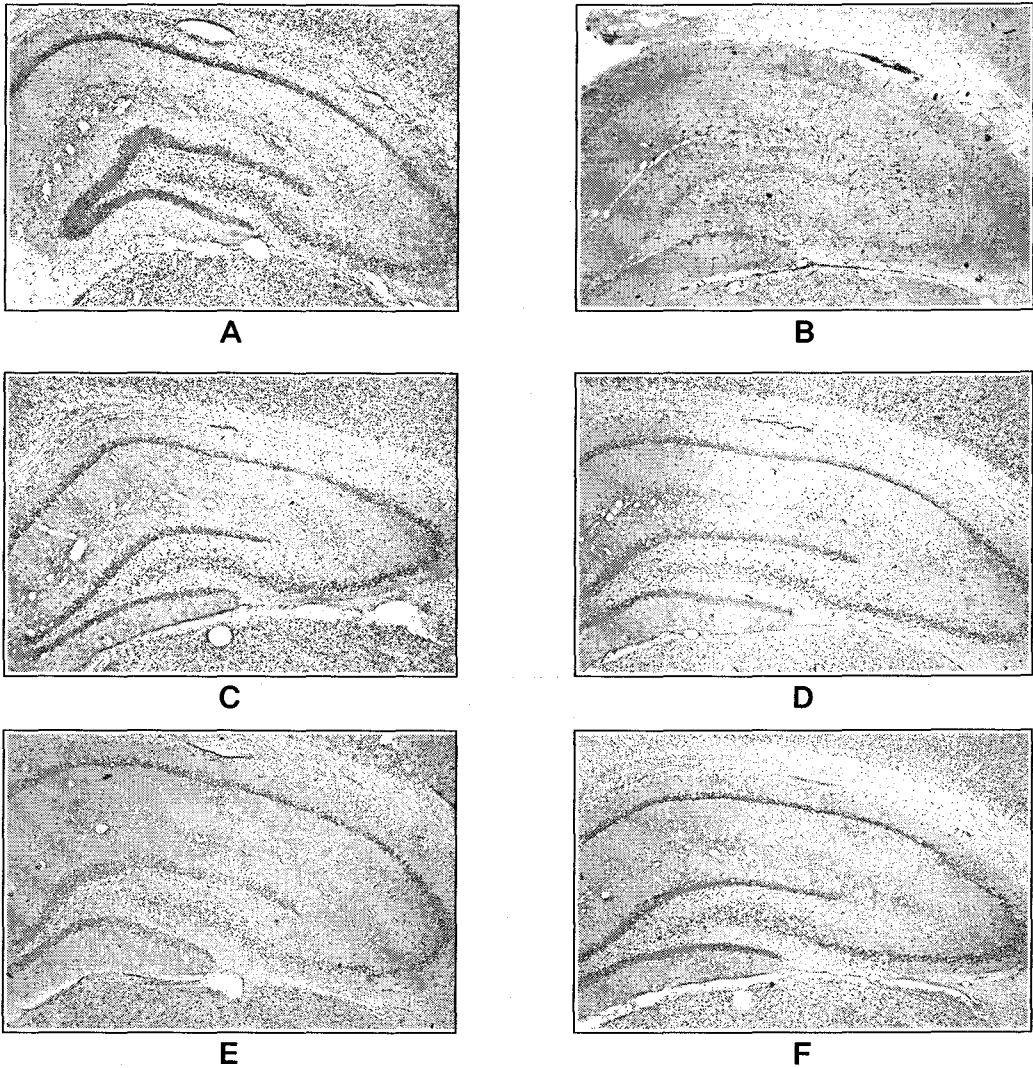


Fig. 6. Representative microphotographs of coronal sections in the hippocampal CA1. A, normal group ; B, control group ; C, AT1 group ; D, AT2 group ; E, AT3 group ; F, AT4 group. AchE-stain. $\times 100$.

되는 것으로^{20,21)}, global하지 않고 전뇌에만 제한하여 후뇌에서의 혈류가 영향을 받지 않아, 호흡과 체순환에 영향을 주지 않는다는 점에서 허혈로 인한 신경손상의 연구에 다용되고 있다. 본 모델은 일시적인 뇌허혈후 재관류로 인한 신경세포의 손상은 다른 부위에 비해 hippocampus의 CA1 pyramidal neuron들에서 선택적으로 발

생된다.^{22,23)} 이는 허혈후 주어진 자극에 대한 예민성 증가에 의한 신경세포의 과활동, 칼슘을 매개로 하는 글루탐산 흥분독성, 미토콘드리아 손상과 단백질 합성의 장애, 유리산소기에 의한 손상, 에너지 대사와 뇌 혈액순환이상 등이 관여되는 것으로 여겨지고 있다²⁴⁾. Hippocampus는 medial septal nucleus에 위치한 세포체로부터

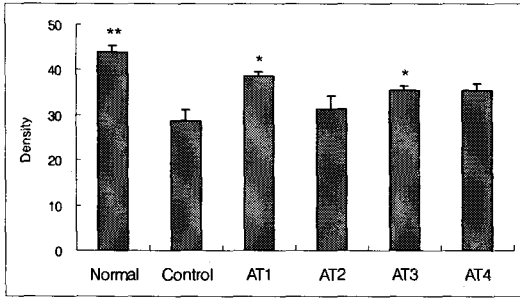


Fig. 7. Effect of acupuncture therapy on the density of ChAT in the hippocampal CA1. Results are shown as mean±SE. Normal, intactness group. Control, no therapy group after ischemia-induced. AC1, acupuncture therapy group at LR1, HT9 after ischemia-induced. AC2, acupuncture therapy group at LU8, KI7 after ischemia-induced. AC3, acupuncture therapy group at LR1, HT9, LU8, KI7 after ischemia-induced. AC4, acupuncture therapy group at LR1, HT9, HT3, KI10 after ischemia-induced. *, P<0.05, **, P<0.01 as compared with the control group.

투사되는 콜린성 신경전달경로로서²⁵⁾, 학습수행 및 기억력에 관여하며, 뇌허혈 등으로 인한 해마의 손상은 방사형 미로와 같은 공간 기억과제를 학습하는 능력에 장애를 보이게 된다.^{26,27)}

Hippocampal CA1 부위를 cresyl violet 염색법에 의한 신경세포 손상방어 효과를 관찰한 결과, 대조군에 비하여 실험군 모두 유의한 증가를 보여주었으며, 이는 손상에 방어기전이 작동하여 이를 회복하려고 하는 작용을 활성화 된 것으로 사료된다. 실험군 가운데 心正格 補穴과 瀉穴 침자군인 AT4군의 64.0±1.53 (density)을 보여 주어 정상군의 68.8±1.49 (density) 수준에 근접한 결과를 나타내어 회복율이 매우 높음을 나타내었다.(Fig. 3, 4)

Cholinergic system은 신경전달물질의 acetylcholine(Ach)의 합성효소인 choline acetyltransferase(ChAT), Ach를 분해하는 분해효소인 acetylcholinesterase(AchE) 및 Ach 전달물질의

수용체가 포함된다. 그 중 AchE는 cholinergic synapse에 존재하여, 신경전달 물질인 Ach를 choline과 acetic acid로 가수분해시키는 효소이다. 이 효소는 post-synaptic membrane의 수용체에 결합하는 Ach를 가수 분해시켜 수용체의 정상적인 기능을 유지시키며, Ach의 생합성에 필요한 choline을 공급함으로써, 신경계가 원활하게 작용하는데 매우 중요한 역할을 하게 된다. 특히 해마는 기억장애에 관계되는 구심성 및 원심성 신경섬유가 가장 많이 연결되는 부위이다. 해마와 신 피질로 투사하는 기저전뇌콜린계 신경단위의 상실 즉, 중격내측(medial septum), Broca의 대각대(diagonal band), Meynert의 기저핵(nucleus basalis of Meynert : nbM)에 있는 choline계 신경단위의 상실로 인해 투사 부위인 대뇌피질 및 해마 부위에서 연접전 콜린계 지표가 극도로 감소하게 되며²⁸⁾, basal forebrain cholinergic system내의 ChAT활성도 감소는 Ach 감소를 초래하여 기억력 및 여러 학습능력 저하와 집중력의 이상을 유발하게 된다.^{29,30)}

Hippocampal CA1 부위의 AchE 발현 정도를 관찰한 결과, 대조군에 비하여 心正格 補穴과 瀉穴 침자군인 AT4군에서 유의하게 증가된 양상을 보여주었는데, 수치에 있어서 37.0±0.75 (density)를 보여 주어 정상군의 39.1±4.27 (density)수준에 근접한 결과를 나타내어 회복율이 매우 높음을 나타내었다. 이의 결과는 cresyl violet 염색법에 의한 신경세포 손상방어효과와 비슷한 결과로 사료된다.(Fig. 5, 6)

Hippocampal CA1 부위의 ChAT 발현 정도를 관찰한 결과, 대조군에 비하여 실험군 중 心正格 補穴을 침자한 AT1군과 心正格 補穴과 腎正格 補穴을 침자한 AT3군에서 유의한 증가를 나타내었는데, 이는 뇌허혈에 대한 조절 작용 중 ChAT 발현에는 心正格的 補穴이 주요하게 작

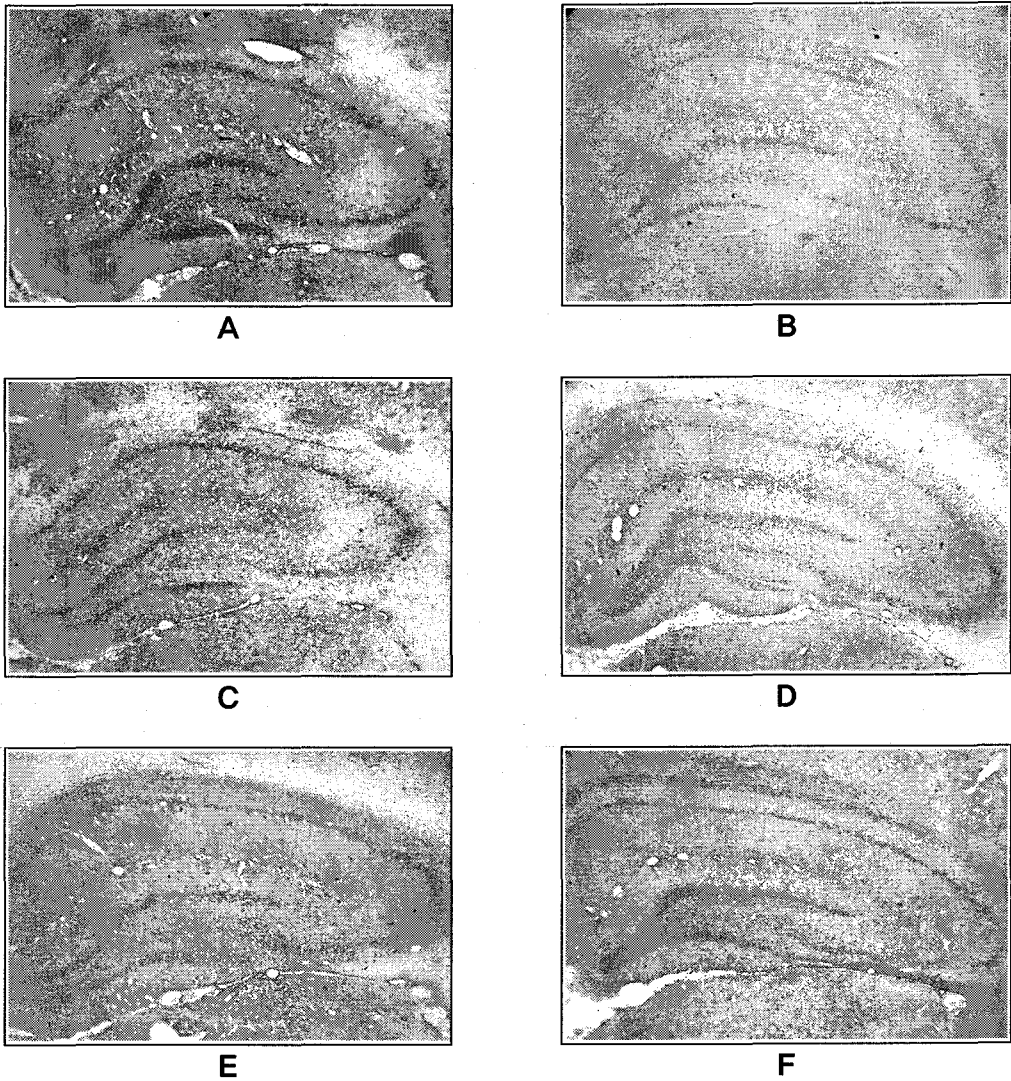


Fig. 8. Representative microphotographs of coronal sections in the hippocampal CA1. A, normal group ; B, control group ; C, AT1 group ; D, AT2 group ; E, AT3 group ; F, AT4 group. ChAT-stain. $\times 100$.

용함을 시사한다고 사료된다.(Fig. 6, 7)

이상에서 본 바와 같이 心正格은 뇌허혈에 대하여 조절 작용이 발휘됨을 시사하고 있으며, 心正格의 補穴과 瀉穴을 모두 함께 적용하는 것이 보다 타당함을 나타낸다고 사료된다.

V. 結 論

畚岩五行鍼法 가운데 中風에 활용되는 心正格의 효능을 실험적으로 평가해보고, 실험적으로 국소뇌허혈을 유발시킨 백서의 중풍 모델에 심정격의 보혈, 신정격의 보혈, 심정격의 보혈 및 신정격의 보혈, 심정격에 침자를 시행한 후

방사형 미로와 조직화학적기법을 이용하여 행동 및 뇌신경세포 보호에 미치는 효과를 관찰한바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 방사형 미로 학습의 오선택 수를 측정에서 대조군에 비하여 3일째에는 AT3군이, 4일째에는 AT1, AT4군이, 5일째에는 AT3, AT4군이 각각 유의한 감소를 나타내었다.
2. 방사형 미로 학습의 정선택을 측정에서 대조군에 비하여 AT4군이 유의하게 높은 정선택율을 나타내었다.
3. Hippocampal CA1 부위 cresyl violet 염색에 의한 신경세포의 손상방어 효과 측정에서 대조군에 비하여 AT1군, AT2군, AT3군, AT4군 모두 유의하게 증가된 밀도를 나타내었다.
4. Hippocampal CA1 부위 AchE 발현에서 대조군에 비하여 AT4군이 유의하게 증가된 밀도를 나타내었다.
5. Hippocampal CA1 부위 ChAT 발현에서 대조군에 비하여 AT1군과 AT3군이 유의하게 증가된 밀도를 나타내었다.

參 考 文 獻

1. 임종국. 침구치료학. 서울 : 집문당. 1983 : 647.
2. 전국한외과대학 침구경혈학교실 편저. 침구학(하). 서울 : 집문당. 1993 : 1132-6.
3. 오진경, 정지욱, 안남윤, 오혜림, 정재훈, 류종훈. 일시적 국부 뇌허혈 동물모델에서 한약제의 신경보호 효과. 생약학회지. 2003 ; 34(4) : 335-8.
4. 대한내과학회 해리슨내과학편집위원회. 해리슨 내과학. 서울 : 도서출판 MIP. 2003 : 2441-65.
5. 강성길, 최용태. 중풍의 침구치료에 관한 연구. 황제의학. 1978 ; 3(4) : 1-15
6. 김진수. 오행침의 체질운동. 부천 : 전국의학사. 2002 : 9, 85, 86.
7. 신정철, 유충렬, 조명래. 行間少府 補瀉鍼法이 局所腦血流量 및 平均血壓에 미치는 影響. 대한침구학회지. 2003 ; 20(3) : 190-200.
8. 박은주, 나창수, 윤여충, 조명래. 《難經》五邪論을 적용한 鍼法이 2K1C 高血壓 白鼠의 血壓에 미치는 影響. 대한침구학회지. 2003 ; 20(1) : 1-12.
9. 윤여충, 장경선, 이해룡. 五行鍼法 效果의 定量的 研究. 대한침구학회지. 1998 ; 15(2) : 211-25.
10. 윤대환, 왕국환, 한정희, 박현정, 나창수. 2K1C 고혈압 백서의 모델에 대한 심실, 신실증 오행사법 자침이 혈압 및 혈장 Renin, ANP에 미치는 영향. 대한경락경혈학회지. 2005 ; 22(1) : 75-84.
11. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke. 1989 ; 20(1) : 84-91.
12. 황정화 원저, 정호영 편저. 실용사암침구정전. 대구 : 석림출판사. 2001 : 9, 11.
13. Dittmar M, Spruss T, Schuierer G, Horn M. External carotid artery territory ischemia impairs outcome in the endovascular filament model of middle cerebral artery occlusion in rats. Stroke. 2003 ; 34(9) : 2252-7.
14. Olton DS. Mazes, maps and memory. Am Psychol. 1979 ; 34(7) : 583-96.
15. Holscher C, O'Mara SM. Neuroscience Fax. San Diego : Academy Press. 1997 : 88-92.
16. Beatty WW, Shavalia DA. Spatial memory in rats: time course of working memory and effect of anesthetics. Behav Neural Biol. 1980 ; 28(4) : 454-62.
17. Bolhuis JJ, Bijlsma S, Ansmink P. Exponential decay of spatial memory of rats in a radial

- maze. *Behav Neural Biol.* 1986 ; 46(2) : 115-22.
18. McGurk SR, Levin ED, Butcher LL. Dopaminergic drugs reverse the impairment of radial-arm maze performance caused by lesions involving the cholinergic medial pathway. *Neuroscience.* 1992 ; 50(1) : 129-35.
 19. Miyagawa M, Honma T, Sato M. Effects of subchronic exposure to toluene on working and reference memory in rats. *Neurotoxicol Teratol.* 1995 ; 17(6) : 657-64.
 20. Buchan A, Pulsinelli WA. Hypothermia but not the N-methyl-D-aspartate antagonist, MK-801, attenuates neuronal damage in gerbils subjected to transient global ischemia. *J Neurosci.* 1990 ; 10(1) : 311-6.
 21. Gill R, Foster A and Woodruff G. MK-801 is neuroprotective in gerbils when administered during the post-ischemic period. *Neuroscience.* 1988 ; 25 : 847-55.
 22. Petit CK, Feldmann E, Pulsinelli WA, Plum F. Delayed hippocampal damage in humans following cardiorespiratory arrest. *Neurology.* 1987 ; 37(8) : 1281-6.
 23. Abe K, Aoki M, Kawagoe J, Yoshida T, Hattori A, Kogure K, Itoyama Y. Ischemic delayed neuronal death—a mitochondrial hypothesis. *Stroke.* 1995 ; 26 : 1478-89.
 24. Fujisawa A, Matsumoto M, Matsuyama T, Ueda H, Wanaka A, Yoneda S, Kimura K, Kamada T. The effect of the calcium antagonist nimodipine on the gerbil model of experimental cerebral ischemia. *Stroke.* 1986 ; 17 : 748-52.
 25. Johnston M, Mckinney M, Coyle J. Evidence for a cholinergic projection to neocortex from neurons in basal forebrain. *Proceedings of the National Academy of Science.* 1979 ; 76 : 5392-6.
 26. Symons JP, Davis RE, Marriott JG. Water-maze learning and effects of cholinergic drugs in mouse strains with high and low hippocampal pyramidal cell counts. *Life Science.* 1988 ; 42 : 375-83.
 27. Sutherland RJ, Rodriguez AJ. The role of the fomic/fimbria and some related subcortical structures in place learning and memory. *Behavioral Brain Research.* 1989 ; 32 : 265-77.
 28. Coyle JT, Price DL, DeLong MR. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science.* 1983 ; 219 : 423-38.
 29. Roth ME. Advances in Alzheimer's disease. *The Journal of Family Practice.* 1993 ; 37(6) : 593-607.
 30. Torre JC, Fortin T, Park GA, Butler KS, Kozlowski P, Pappas BA, de Socarraz H, Saunders JK, Richard MT. Chronic cerebrovascular insufficiency induces dementia-like deficits in aged rats. *Brain Res.* 1992 ; 582(2) : 186-95.