

흰쥐의 간질 소발작에 대한 전침자극의 억제

김연진^{1,3} · 김재효² · 馬 騁¹ · 沈梅紅¹ · 李忠仁¹ · 손인철²

¹中國 南京中醫藥大學 第2臨床醫學院 鍼灸學教研室, ²원광대학교 한의과대학 경혈학교실,
³서울대학교 자연과학대학 물리학과 한의학물리실험실

Electroacupuncture suppresses epileptic EEG in experimental induced epileptic rats

Yun-Jin Kim^{1,3}, Jay-Hyo Kim², Cheng Ma¹, Mei-Hong Shen¹, Zhong-Ren Li¹, In-Chul Sohn²

¹Dept. of Acupuncture, Second Medical College, Nanjing University of TCM :
²Dept. of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Wonkwang University :
³Biomedical Laboratory, School of Physics, Seoul National University

Abstract

Objectives : We investigated the effect of electroacupuncture on epileptic rat model and its underlying mechanisms on suppression of the epilepsy.

Methods : It was used pentylenetetrazol (35~40 mg/kg. i.p) induced epileptic rat model and square wave electrical stimulations (5 mA, 5, 40 or 80 Hz frequency) was applied to acupoints on "Dazhui" and "Taichong" for 30min.

Results : Electroacupuncture suppressed spikes and slow waves of EEG due to the epileptic condition. Out of electroacupuncture, a high frequency of 80Hz had a better effect for suppress epileptic EEG wave.

Conclusions : Electroacupuncture can markedly reduce the excitability of cerebral cortex and strengthen the inhibitory process, checking epilepsy wave. Some intrathalamic nuclei have a promoting or inhibiting effect on epileptic EEG wave. This experimental study we are proposed to Electro-acupuncture can suppression epileptic rat model and it's scientific mechanisms.

Key words : electroacupuncture, epilepsy, electroencephalogram

I. 서 론

간질은 신경계 질환 중에서도 만성적인 질환으로, 신경 세포의 갑작스러운 무질서한 이상 흥분 상태에 의해 야기되어 반복적으로 재발되는 특징을 가지고 있는 질환이다¹⁾. 본병의 병리기전은 주로 肝, 脾, 腎의 三經과 관련이 있다. 腎

虛 하면, 肝을 養護하지 못하여 허약해지고, 脾虛 하면 痰이 생겨, 情志가 失調하게 된다. 肝風 內動하여, 발병을 하게 된다. 또한, 간질의 침구학적 연구로는 임상의학의 임상치료율에 대한 논문들이 많이 발표 되었으며, 기초의학적 연구로는 간질 유발 모델의 전침 효과에 대한 논문들로, Liu 등²⁾은 kainic Acids로 유발된 간질 모델에서 전침 치료 이후의 amino acid의 변화에 대해 관찰 하였으며, Lou³⁾는 간질 모델의 전침 치료에 대한 ECoG 파형 패턴에 대한 논문을 발

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

· 투고 : 2006/05/10 · 심사 : 2006/06/08 · 채택 : 2006/06/19

표 하였다. 본 실험실에서는 유발된 흰쥐 간질 모델에서 전침 치료 이후의 대뇌피질의 nitric oxide와 nitric oxide synthase의 변화에 대해 관찰 하였고⁴⁾, Jair Guilherme dos Santos등⁵⁾은 pilocarpine 으로 유발된 흰쥐 모델의 전침치료에 대한 T-maze test를 이용하여 인지 부족에 대한 변화를 관찰하였다. 기초의학적 연구는 임상 의학의 임상 치료율에 대한 과학적 접근방법으로 뇌파의 파형 변화와 함께 신경 화학적 분석방법을 이용하여 전침이 간질 치료에 대한 침구치료의 근거를 제시하고 있다.

본 연구에서는 간질 발작과 관련한 대뇌피질의 흥분성에 대한 전침치료의 기전을 이해하고자 간질발작으로 인한 陰陽失調를 조절하고 熄風開竅, 疏通經氣의 작용으로 간질 치료에 주된 혈위로 이용되고 있는 大椎와 太衝 전침자극을 통해 간질 동물 모델의 발작 억제에 대하여 연구 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 중국 남경중의약대학 실험동물 센터(실험동물 관리등록번호 SYXK(蘇)2002-0053, 동물실험 연구과제 등록번호 SYXK(蘇)2002-0012)에서 공급 받은 200~300g의 음성 Sprague-Dawley rats를 사용 하였고, 사육실 환경은 실온에 일주일 정도 적응한 뒤에 실험에 사용하였으며, 물과 사료는 자유로이 섭취할 수 있도록 하였으며 12:12 시간의 주야를 구분해 주었다. 실험동물은 간질유발(Epi) 후 전침자극을 수행(Epi+EA)하였다.

2. 간질 유발

실험군의 간질 유도는 pentylenetetrazol

(SIGMA, USA. 35~40mg/kg)을 복강 주사하여 뇌파에서의 파형과 함께, Racine 등급에 따라 동물간질 발작 행동을 관찰 하였다. 본 실험에 사용된 간질 유발 모델에 사용된 pentylenetetrazol (PTZ)는 신경계의 구성 자체에는 문제가 없더라도 GABA (gamma-aminobutyric acid) 같은 신경전달물질을 차단하여 간질 발작을 유발하게 된다.

3. Electroencephalogram 측정 및 분석

10% sodium hydrate (Shanghai Medical Chemical Industry, Shanghai, China)을 복강 주사(3.0 mg/kg)하여 마취시킨 뒤, 흰쥐의 두개골을 절개하여 감각 운동 피질부위에 전극을 부착하였다. 실험동물 뇌고정위 장치(Kopf 900 Stereotaxic Series, Sydney, Australia)에 고정시키고, 감각-운동 피질에 부착된 전극을 전기생리 측정기(Powerlab 8/30, AD instruments, Australia)를 통해 뇌파를 측정하였다. 대뇌피질에서 발생하는 간질발작과 관련한 간질 파형 (spike-slow wave)을 60초 동안 관찰하여 Chart Ver 4.0 (AD instruments, Australia)와 개인용 PC를 이용하여 저장한 후 Matlab Ver 6.5의 Wavelet에서 분석을 수행 하였다.

4. 취혈 및 전침자극

전침자극은 흰쥐의 “大椎”와 “太衝”를 Hua⁶⁾의 흰쥐 혈위도를 참고하여 취혈하였고, 이번 실험에서는 흰쥐를 마취시킨 뒤, 실험동물 뇌고정위 장치에 고정시킨 뒤, 마취 상태에서 자침하였으며, 임상에서 사용되는 일회용 호침(직경 0.25 mm, 길이 25mm. Huanqiu Acupuncture Medical Appliance Co, Ltd, China)을 3~5 mm 깊이로 혈위에 삽입하였다. 임상에서 사용되는 전침 자극기 (Model No. G6805-C. Shentou Medical

흰쥐의 간질 소발작에 대한 전침자극의 억제

Table 1. Effects of electroacupuncture on the time periods of epileptic behaviors.

EA stimulus		Before EA	After EA
Low Frequency	5 Hz	5.92±1.07s / 60s	3.72±1.06s / 60s
Middle Frequency	40 Hz	5.18±0.79s / 60s	3.91±0.78s / 60s
High Frequency	80 Hz	5.35±0.66s / 60s	2.65±0.52s / 60s*

numbers of animal are 6, \bar{x} ±SEM; * denotes significant difference from the Before EA ($P<0.05$).

Instruments, Shentou, China)를 이용하여 구형 파의 1ms duration과 5mA 강도로 고정하고 30 분간 자극하였으며, 주파수 변화(5, 40, 80Hz)에 따른 효과를 비교하였다.

5. 통계처리

실험결과는 Mean±SEM으로 나타내었다. 통계학적 분석은 SPSS version 10을 사용하여 paired student *t*-test와 dunnett's post-hoc test에 의한 one way repeated measure analysis of variance (ANOVA)로 하였다. *p*값이 0.05보다 작으면 통계적으로 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

Ⅲ. 실험결과

1. 전침의 주파수 변화에 따른 간질 발작 억제 효과

전침의 5mA의 고정 하에, 주파수 변화를 저주파(5Hz), 중주파(40Hz)와 고주파(80Hz)로 하여 30분 자극을 주었다. 그 결과, 저주파와 중주파의 전침 이후의 변화는 적었으나, 고주파의 전침 이후와 비교하여 확연히 변화를 관찰할 수 있었다 (Table 1).

2. 전침의 대뇌피질 흥분성 억제과정의 영향

좌골신경 자극을 통한 대뇌피질의 유발 전위

를 관찰하기 위하여, 좌골신경을 돌출시켜 1 Hz, 0.7 ms와 2~10 V로 6회 연속하여 자극함으로써 감각운동피질의 유발전위를 측정하였다. PTZ을 주사하기 전의 유발 전위는 232.18±46.32 μ V 이었으며, PTZ을 주사 후 10분 뒤의 전위는 384.30±73.28 μ V로 나타났다. 또한, 80 Hz의 전침자극을 大椎와 太衝에 30분 동안 시술한 후에는 전위가 275.85±66.92 μ V로 관찰되었다 (Fig. 1).

광 자극에 대한 대뇌피질의 유발 전위를 관찰하기 위하여, 암실환경에서 atropine 점안액을 흰쥐의 눈에 점안하고 10분 이후 복강 주사로 PTZ (15 mg/kg)을 주사하여 간질을 유도하였

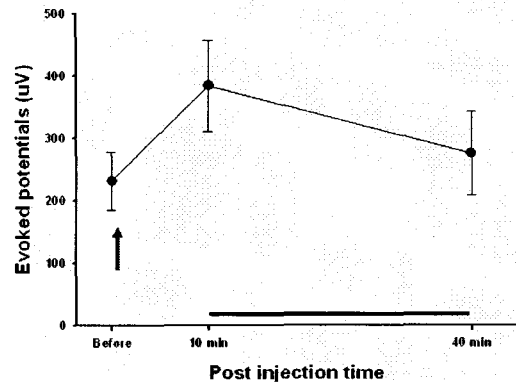


Fig. 1. Suppressing effects of high frequency EA on the development of the excitatory evoked potentials (EPs) of somatosensory-motor cortex induced by PTZ injection in rats. Arrow indicates the time of PTZ injection; horizontal bar indicates the period of EA stimulation.

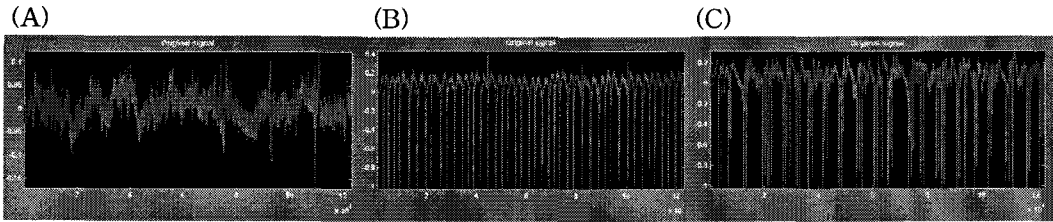


Fig. 2. Effects of EA on the EPs of somatosensory-motor cortex to the light stimulation in the epileptic rat. A, PTZ injection 10 min after applying atropine to the pupil without the light stimulation to the pupil; B, light stimulation (0.2 Hz for 1 min) to the pupil increases the spike-slow waves of the EPs; C, light stimulation after high frequency EA for 30 min inhibits spike-slow waves of the EPs.

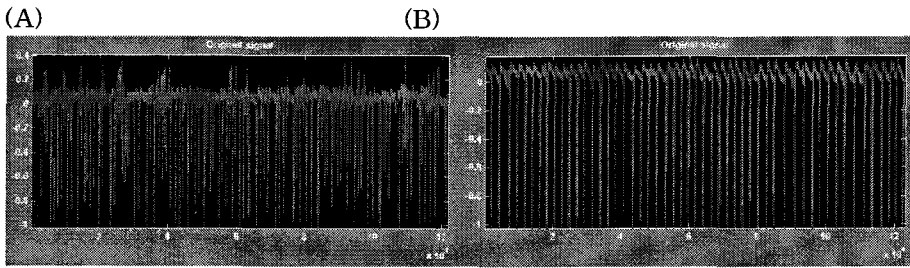


Fig. 3. A representative effect of high frequency EA on the EPs of somatosensory - motor cortex in response to electrical stimulation ($50 \mu A$, 3 Hz for 2 sec) to the centromedian nucleus in the epileptic rat. A, the spike-slow waves of the EPs 10 min after PTZ injection; B, EA for 30 min inhibits spike-slow waves of the EPs.

다. PTZ 주사 직후에 spike-slow wave가 관찰되지 않았으나, 흰쥐의 동공에 대한 광자극 (0.2 Hz for 1min) 적용 시 spike-slow wave가 관찰되었다 (Fig. 2). 이후 30분 동안 80Hz의 주파수 강도로 전침 자극을 가할 경우, 광자극에 의하여 유발되는 spike-slow wave의 파형이 억제된 것을 관찰하였다. 결과적으로 PTZ 주사 후에 간질 파형이 나타나면서 대뇌피질의 흥분성이 높아졌으며, 전침 자극 후 대뇌피질의 흥분성을 억제하는 작용을 통하여 간질 소발작을 억제하는 결과를 관찰할 수 있었다.

3. Thalamencephalon nucleus의 소발작에 대한 영향과 전침의 작용

PTZ 주입 후 30분이 경과하였을 때 centro-

median nucleus에 전기자극 ($50 \mu A$, 3 Hz for 2 sec)을 가하여 대뇌피질에서 유발되는 spike-slow wave를 관찰하였다. PTZ 주입으로 빈번하게 발생하는 spike-slow wave는 大椎와 太衝에 대한 전침 자극으로 파형의 빈도가 줄어드는 것이 관찰되었다 (Fig. 3).

Reticular nucleus에 대한 전기자극 ($50 \mu A$, 3Hz for 2sec)으로 유발된 대뇌피질의 spike-slow wave에서, 80 Hz 전침자극은 PTZ 주입으로 유도된 spike-slow wave의 진폭을 감소시켰다. 이는 reticular nucleus가 간질 소발작 발생과 관련된 기전에 작용하며, 특히 전침자극이 reticular nucleus에 함께 작용되고 있음을 볼 수 있다 (Fig. 4). 더욱이 thalamencephalon nucleus에 대한 전기자극으로 유발되는 spike-

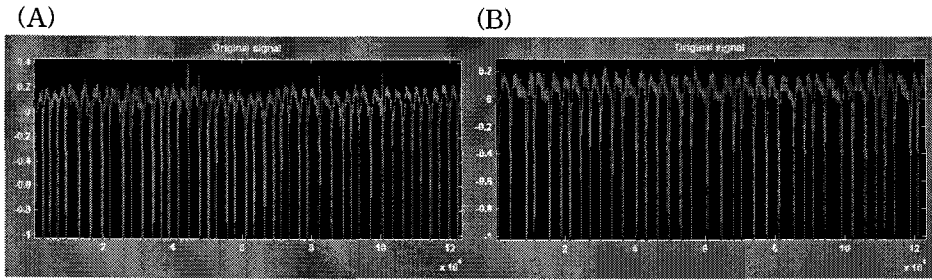


Fig. 4. A representative effect of high frequency EA on the EPs of somatosensory - motor cortex in response to electrical stimulation ($50 \mu A$, 3 Hz for 2 sec) to the reticular nucleus in the epileptic rat. A, the spike-slow waves of the EPs 10 min after PTZ injection; B, EA for 30 min inhibits spike-slow waves of the EPs.

slow wave 역시 Fig. 3과 4에서 보여주는 결과와 유사하였다.

IV. 고 찰

본 연구에서는 PTZ 주입이 흰쥐의 대뇌피질의 신경흥분성 야기하여 간질발작을 유발하며, 大椎와 太衝 전침자극으로 간질 발작과 관련된 centromedian nucleus, reticular nucleus와 thalamencephalon nucleus의 pathway를 통한 대뇌피질의 흥분성 억제가 간질발작 억제에 중요한 인자임을 보여주었다. PTZ의 작용기전이 명확하지는 않으나 GABA 수용체-benzodiazepine 수용체-chloride 이온운반체 복합체에 결합하여 GABA 수용체 복합체에 길항작용을 함으로써 GABA의 억제장용을 제거하여 신경세포의 활성화를 증가시키는 것으로 알려져 왔다. PTZ은 소발작, 대발작, 간대성 발작 및 간대성 근경련성 발작 등 각종 전신성 발작을 일으키므로 전신성 경련발작의 연구에 널리 이용되고 있다⁷⁾. Avoli 등^{8,9)}이 저 농도의 penicillin을 고양이 대뇌피질에 주입하여 전형적인 spike-slow wave를 관찰하게 되었으며, 이로 인하여 penicillin이 대뇌피질의 흥분성을 증가하는 주된 원인으로 간질 모델에 사용하기 시작하였지만, 대뇌피질의 흥분

성을 억제하는 방법을 사용하면 바로 spike-slow wave가 소실된다¹⁰⁾. 이에 본 연구는 PTZ 복강 주사 후 대뇌피질의 흥분성이 증가하였고, 이로 인하여 spike-slow wave를 관찰 하였으며, 좌골신경의 유발전위가 증대하였고, 전침 치료 이후에 파형의 강도가 줄어들었음을 관찰할 수 있었다. 또한 광 자극에 의한 유발전위에서 PTZ 주입으로 광자극에 대한 대뇌피질의 흥분성이 증가함을 관찰할 수 있었는데, 이 역시 전침 자극을 통해 동일한 억제 효과를 관찰할 수 있었다. 특히 소량의 PTZ (15 mg/kg)은 간질 파형을 유발하지 않았지만, 광 자극으로 인한 대뇌피질의 흥분성이 증가하면 바로 간질 파형이 발생하여 전침 치료의 작용을 관찰하는데 더 의미가 있다고 볼 수 있다.

전침 치료는 대뇌피질의 흥분성을 감소시키고, 좌골신경의 유발전위도 전침치료 이후에 감소하였고, 광 자극에 대한 유발전위 실험에서도 간질 파형이 나타나지 않게 되었다. 이는 전침 치료가 대뇌피질의 간질 파형을 억제하고 이로 인하여 소발작을 억제하는 중요한 인자가 되었으며 대뇌피질의 흥분성을 감소하고 억제하는 근거를 도출 할 수 있었다. Gloor 등¹¹⁾ 역시 소발작의 기전으로는 간뇌와 피질간의 상호 관계가 있다고 보고하였고, thalamencephalon nu-

cleus에서 결과로는 전침 자극 이후 모두 파형의 강도가 줄어들었다. 이 역시 전침이 발작 억제를 가능케 하는 메커니즘이라고 볼 수 있다¹²⁾. 그러나 현재의 결과를 통해 大椎와 太衝의 간질 치료 기전을 보다 명확하게 하기 위하여 관련된 대뇌피질의 각 해부학적 구조에 대한 간질 발작의 영향과 전침 치료의 간질 억제와의 상관성 연구와 더불어 신경전달물질과 전침 치료의 관련성에 대한 기전 연구와 뇌파의 다양한 분석방법에 대한 연구를 진행 중에 있으며, 향후 심도 있는 다양한 방면의 연구가 요구된다.

V. 결 론

본 연구에서는 간질 발작과 관련한 전침치료의 기전을 이해하고자 大椎와 太衝 전침자극을 통해 간질 동물 모델의 발작 억제에 대하여 대뇌피질의 흥분성을 연구하였다.

1. PTZ 주입은 흰쥐의 간질발작과 관련된 행동반응과 대뇌피질의 신경흥분성 야기하였다.
2. PTZ 주입으로 야기된 간질발작 행동은 大椎와 太衝에 대한 80 Hz 고주파성 전침자극에 의하여 유의하게 억제되었다.
3. 간질 발작과 관련된 centromedian nucleus, reticular nucleus와 thalamencephalon nucleus를 통한 대뇌피질로의 pathway가 전침자극에 의하여 흥분성 억제되었다.

본 연구의 결과는 급성 간질모델에서 전침자극의 효과가 간질발작과 관련되어 대뇌피질의 흥분성을 억제하는 것으로 이해되었다. 그러나 본 결과를 통해 大椎와 太衝의 간질치료 기전을 보다 명확하게 하기 위하여 관련된 대뇌피질의 각 해부학적 구조에 대한 간질 발작의 영향과 전침 치료의 간질 억제와의 상관성 등의 추가적인 연구가 필요하다고 사료된다.

감사의 말씀 : We are thanks Dr. Wen-Min Niu (Department of Anatomy, Qinghai University, China and Department of Acupuncture, Nanjing University of TCM, China), he supports our rat operating skill, thanks Dr. Yeon-Kwang Kim (Basic Medical Science College, Nanjing University of TCM, China and TCM Medical TK Sdn/Bhd, Malaysia), he supports our electroacupuncture skill, and thanks Mr. Seung-Hoon Yoo (Plasma accelerator group, KERI, Changwon, Korea) he supports our EEG data analysis.

참 고 문 헌

1. Wyllie, Elaine. Epilepsy Animal Model. In: The treatment of Epilepsy. 4th ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins. 2005 : 60-2.
2. Liu J, Cheng J. Changes of amino acids release in rat's hippocampus during kainic acid induced epilepsy and acupuncture. Zhen Ci Yan Jiu. 1995 ; 20(3) : 50-4.
3. Lou ZC. Inhibitory effect of electroacupuncture on cAMP induced ECOG epileptiform waves. Zhen Ci Yan Jiu. 1989 ; 14(3) : 319-22, 314.
4. Kim YJ, Li ZR, MA C, et al. Effects of electroacupuncture on nitric oxide and nitric oxide synthase in brain of rats with epilepsy. Chin J of Clini Rehab. 2005 ; 9 : 114-5.
5. Dos Santos JG Jr, Tabosa A, do Monte FH, Blanco MM, de Oliveira Freire A, Mello LE. Electroacupuncture prevents cognitive deficits in pilocarpine-epileptic rats. Neurosci Lett. 2005 ; 384 : 234-8.
6. Li ZR et al. Rat acupoints atlas. In: Experimental Acupuncture Science. 1st ed.

흰쥐의 간질 소발작에 대한 전침자극의 억제

- Beijing: 中國中醫藥出版社 2003 : 327-9.
7. 김광수, 유경무, 서성일, 이상도. Pentylene-tetrazole kindling 에 의한 백서 해마의 c-fos mRNA 발현. 대한신경과학회지. 1996 ; 14 : 89-101.
 8. Avoli M, Gloor P. Role of the thalamus in generalized penicillin epilepsy: Observations on decorticated cats, *Exp Neurol*. 1982 ; 77(2) : 386-402.
 9. Avoli M, Kostopoulos G. Participation of corticothalamic cells in penicillin-induced generalized spike and wave discharges, *Brain Res*. 1982 ; 247 (1) : 159-63.
 10. George Kostopoulos, Avoli M. Enhanced response of cortical neurons to thalamic stimuli precedes the appearance of spike and wave discharges in feline generalized penicillin epilepsy. *Brain Res*. 1983 ; 278 : 207-17.
 11. Gloor P, Fariello RG. Generalized epilepsy: some of its cellular mechanisms differ from those of focal epilepsy, *Trends Neurosci*. 1988 ; 11 : 63-8.
 12. Michael H. Cohen. Regulation, religious experience, and epilepsy: a lens on complementary therapies, *Epilepsy Behav*. 2003 ; 4 : 602-6.