

# 白鼠의 formalin 誘發 痛症에 대한 電鍼刺戟과 하행성 진통기전

김재효<sup>1</sup> · 구성태<sup>2</sup> · 손인철<sup>1</sup>

<sup>1</sup>원광대학교 한의과대학 경혈학교실, <sup>2</sup>한국한의학연구원 의료연구부

## Heterotopic electroacupuncture modulates formalin-induced pain via descending inhibition in the rat

Jae-Hyo Kim<sup>1</sup>, Sung-Tae Koo<sup>2</sup>, In-Chul Sohn<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Wonkwang University,  
<sup>2</sup>Dept. of Medical Research, Korea Institute of Oriental Medicine

### Abstract

**Objectives** : The present study was investigated the effect and pathway of heterotopic electroacupuncture (EA) on pain induced by formalin in rats.

**Methods** : Acupoints in the right forepaws, HT<sub>7</sub> and PC<sub>7</sub>, were stimulated with 3 mA, 2 ms, and 10 Hz before subcutaneously formalin injection (5%, 50  $\mu$ l) to the left hind paw. Moreover, it was investigated whether the dorsolateral funiculus (DLF), as known to the descending inhibition, mediates analgesia of the heterotopic EA, and an administration of naltrexone blocks the effect of EA.

**Results** : In the immunohistochemistry of cFos-like protein (cFL), there were inhibitory effects of EA on the increased expression of cFL in the lumbar spinal dorsal horn neurons following formalin injection. Especially, EA inhibited the expression of cFL on the superficial laminae than that on the deep laminae at 1 hr after, but that on the deep laminae than that on the superficial laminae at 2 hr after. Also, EA suppressed the increased expression of nitric oxide (NO) and neuronal nitric oxide synthase (nNOS) in the lumbosacral spinal cord after formalin injection, but not Sham-EA. Suppressed expressions of cFL, NO and nNOS in the spinal cord were eliminated after transection of the ipsilateral DLF at T<sub>10</sub>~T<sub>11</sub> levels. However, pretreatment of naltrexone could not prevent the suppressive expressions of cFL, NO and nNOS at the spinal cord.

**Conclusions** : These results suggest that the analgesia of heterotopic EA may be modulated through the DLF constituting the descending inhibition.

**Key words** : heterotopic electroacupuncture, formalin test, cFos, nitric oxide

· 교신저자: 김재효, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의과대학  
경혈학교실, Tel. 063-850-6446, Fax. 063-857-6458,  
E-mail : medicdog@wku.ac.kr

\* 본 연구는 "2006년도 원광대학교 교비"의 지원으로 수행되었음.  
· 투고: 2006/08/08 · 심사: 2006/09/04 · 채택: 2006/09/11

## I. 緒 論

鍼灸治療는 韓醫學에서 기본이 되는 치료수단으로 최근 鎮痛作用에 대한 연구가 증대되면서 다양한 연구결과들이 보고되고 있으며, 鎮痛效果 범위와 작용이 점차 밝혀지고 있다. 그러나 이러한 鍼灸治療에 의한 鎮痛效果에 대한 명확한 機轉이나 鎮痛範圍에 대하여서는 아직 많은 논란이 있다.

《黃帝內經 素問 調經論》 “痛在於左 而右脈病者 巨刺之”<sup>1)</sup>와 《靈樞 官鍼篇》 “巨刺者 左取右 右取左”<sup>2)</sup>는 痛症誘發 部位의 遠位에 대한 鍼灸刺戟이 痛症이나 疾病을 억제할 수 있다는 것이다. 이는 최근 주로 연구되고 있는 痛症 인 근부위의 經穴을 이용한 鎮痛效果나 機轉研究에 다른 가능성을 제시하며, 鍼灸治療를 통한 痛症조절의 가능성과 역량을 크게 확장시킬 수 있는 것으로 이해할 수 있다.

현재까지 각종 鍼刺鎮痛 연구결과들을 보면, 대개 痛症 유발부위와 관련한 인접부위에서의 鍼刺戟의 效果<sup>3,4)</sup>가 주로 연구되었고, 電鍼刺戟의 자극패턴에 따른 내재진통계(endogenous opioid system) 활성화에 중심이 되었다. 그러나 최근 脊髓視床路(spinothalamic track)와 脊髓後角 神經細胞들이 그들의 말초수용역과 상관 없는 다른영역의 다양한 자극에 의하여 흥분성이 억제될 수 있다는 결과들이 보고되었고<sup>5-8)</sup>, 足底에 formalin 주입으로 야기된 통증에 健側 上肢에 대한 전침자극이 흰쥐의 통증반응을 크게 억제하는 것이 관찰되어 이러한 결과들이

巨刺法에 근거한 鍼灸治療의 원리를 이해하는데 근거가 될 수 있다<sup>9,10)</sup>.

cFos 단백질은 일정한 자극에 의해 신경세포에서 발현되는 immediate early gene 중의 하나로 신경세포의 활동성을 관찰하는 표식자로, 흰쥐에서 下肢의 皮下에 formalin 주입시 척수 및 후근 신경절에서 時間 경과에 따른 cFos 단백질을 포함한 기타 immediate early gene 단백질의 발현양상 및 척수 부위별 분포양상에 대한 실험들이 이루어졌다<sup>11,12)</sup>.

산화질소(nitric oxide, NO)는 중추신경계와 말초신경계에서 시냅스간 신호를 전송하는 중요한 신경전달자이다. NO는 nitric oxide synthase (NOS)의 작용을 통해 아미노산 L-arginine으로부터 형성는데, nNOS는 척수 후각의 표층에 주로 집중되어 감각정보 처리에 있어서 척수의 nitric oxide에 중요한 역할을 담당하게 한다<sup>13)</sup>. 특히 NOS inhibitor인 L-NAME (NG-nitro-L-arginine methyl ester)의 주입은 formalin 또는 capsaicin으로 유발된 통증 반응을 감소시킨다는 보고하고 있다<sup>14)</sup>.

本 研究는 이전의 실험결과를 바탕으로 흰쥐의 formalin pain을 유발한 후, 통증이 유발된 말초수용야와 거리가 먼 영역에 대한 電鍼刺戟의 진통효과 및 작용의 경로가 무엇인지를 밝히고자 하였다. 이를 위해 요척수 후각에서의 cFos, No 및 nNOS의 발현의 변화를 중심으로, 진통의 경로로 일반적으로 알려진 척수의 배측 외측(dorsolateral funiculus) 제거 또는 opioid receptor의 작용을 억제하였을 때 巨刺法을 근

거로 한 전침자극의 효과가 어떻게 변화하는지를 추구하였다.

입부위는 비복신경(sural nerve)가 지배하는 영역에 해당하였다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 實驗 動物

실험동물은 체중 200~250g의 Sprague-Dawley계 흰쥐 수컷을 사용하였으며, 실험 1주일 전부터 실온의 실험실 환경에 적응할 수 있도록 하여 stress 및 환경의 변화에 따른 영향을 최소화하였다. Formalin 주입한 對照群(Con), formalin 주입전 鍼刺戟을 시행한 電鍼刺戟群(EA)과 任意穴 刺鍼群(Sham-EA)의 실험군으로 분류하였으며, 실험동물의 전치리에 따라 배외측속 손상군(DLFX)와 naltrexone 투여군(Nalt)을 두었다

### 2. 麻醉

모든 실험동물은 수술 또는 電鍼刺戟 동안 3% halothane (2-Bromo-2-chloro-1, 1, 1-trifluoroethane, Sigma-Aldrich Inc, U.S.A.) 과 100% 산소(O<sub>2</sub>)의 혼합가스를 1 L/min로 마취를 시작하였으며, 마취가 이루어진 뒤 0.5% halothane과 100% 산소의 혼합가스로 마취를 유지하였다.

### 3. 痛證 誘發

痛症을 유발하기 위하여 左側 足底部位 皮下에 5% formalin 용액 50 $\mu$ l를 주입하였으며, 주

### 4. 取穴 및 電鍼 刺戟

실험동물의 電鍼刺戟은 右側 上肢에서 手少陰心經의 原穴인 神門(HT<sub>7</sub>)과 手厥陰心包經의 原穴인 大陵(PC<sub>7</sub>)을 取穴하였으며, stainless steel needle ( $\varnothing$ 0.25mm)가 各各의 經穴 部位의 皮下에 3~5mm 깊이로 삽입하였다. 電鍼刺戟은 formalin주입 직전 30분간 神門과 大陵 부위에 가하였다. 電氣刺戟은 pulsemaster (A300, WPI, U.S.A.)를 통해 주파수와 자극시간을 조절하였으며, stimulus isolator (A385, WPI, U.S.A.)를 통해 2ms, 3mA의 강도와 10 Hz의 빈도로 자극이 이루어졌다. 아울러, 任意穴 電鍼刺戟(Sham-EA)을 위하여, 右側 上肢 曲池(LL<sub>11</sub>) 외측 5mm 부위를 같은 강도와 빈도로 30분간 電鍼刺戟을 가하였다.

### 5. 배외측속(dorsolateral funiculus) 손상

배외측속의 손상(DLFX)는 halothane으로 마취한 상태에서 수행되었으며, 흉추 10~11번 사이의 좌측 배외측속을 손상시키고자 하였다. 간략히 수술법을 소개하면, 먼저 흉추 10~11번 사이에서 척수후궁절제술(laminectomy)을 통하여 척수를 노출시켰다. 그 다음으로는 척수표면을 덮고있는 경막(dura meter) 일부를 제거하여 척수표면을 노출시킨 후, 미세가위를 이용하여 배외측속에 해당하는 부위를 절단하였다. 이때 척수에 혈액공급을 하는 혈관이 손

상되지 않도록 주의하였으며, 배외측속 손상 후 gelfoam을 이용하여 손상된 경막 부위를 도포하고, 수술부위를 봉합하여 청결한 cage에서 5~6일 동안 사육한 후, 양측 下肢의 운동상태가 정상적인 손상동물을 선별하여 실험에 사용하였다. 아울러, 모든 실험과정이 끝난 뒤에는 배외측속의 손상여부를 확인하고자 손상부위의 흉추를 20 $\mu$ m의 두께로 절편하여 hematoxylin and eosin (H&E) 염색을 실시하여, 본 실험에서는 정확히 배외측속 손상이 된 실험동물의 자료를 취합하였다.

## 6. cFos 면역 조직 화학 검사(Immunohistochemistry)

요척수에서 cFos 단백질(cFL) 발현을 측정하기 위하여 formalin 주입나 電鍼刺戟이 시술된 실험동물을 chloral hydrate (Merck, germany) 250mg/kg로 마취한 후 pH 7.4의 phosphate buffered saline (PBS) 용액으로 심장 관류하여 혈액을 제거하였으며, 다시 4% paraformaldehyde + 0.1 M PBS로 관류시킨 후 척수를 박리하였다. 박리된 척수는 4% paraformaldehyde + 0.1 M PBS에서 3시간 동안 실온에서 고정한 후 30% sucrose에서 2일 이상 방치하였다. Cryostat (Leica, Germany)를 이용하여 L3 - L5사이를 40 $\mu$ m 두께로 조직절편을 만들어서 pH 7.4의 PBS 용액으로 3회 이상 세척하고 0.3% Triton-X 100으로 30분간 진탕한 후 PBS로 3회 이상 세척하였다. 그후 blocking agent (normal goat serum)를 실온에서 30분

간 처리한 다음 일차항체 (c-Fos, Oncoene Sci. 1:250)를 4 $^{\circ}$ C에서 하룻밤 동안 반응시킨 후 2시간 동안 실온에서 진탕시키고 PBS로 세척하였다. 그후 이차항체인 biotinylated anti-rabbit & anti-mouse immunoglobulin (Dako, Denmark)을 실온에서 40분간 처리하여 PBS로 세척하고, streptavidin peroxidase (Vector ABC kit)를 20분간 처리하여 PBS로 세척한 뒤 chromogen인 0.05% diaminobenzidine으로 발색하였다. 증류수로 1시간동안 세척한 후 광학 현미경하에서 진갈색으로 보이는 c-Fos 양성 세포를 관찰하였으며, 화상자동분석 시스템 (Image Pro Plus 4.0, USA)으로 분석하였다.

## 7. 산화질소(nitric oxide) 정량분석

Griess 반응물을 사용하여 안정화시킨 NO<sup>-2</sup>와 NO<sup>3-</sup>를 통해 척수내 산화질소(NO)를 측정하였다. 간단히 요약하면, 요척수를 10% sucrose 용액으로 분쇄한 후 200 $\mu$ l 균질액을 5분간 98 $^{\circ}$ C로 가열하고 10,000rpm으로 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하였다. 40 $\mu$ l 상층액을 40 $\mu$ l MOPS buffer (50mM MOPS/1mM EDTA, pH 7.0)와 혼합한 뒤 5 $\mu$ l Escherichia coli nitrate reductase (1unit/500 $\mu$ l MOPS buffer)와 10 $\mu$ l NADH (2mM)을 추가하여 실온에서 20분간 배양하였고, 50 $\mu$ l Griess reagent A (1% sulfanilamide in 3N HCl)과 반응시켰다. 그 뒤에 50 $\mu$ l Griess reagent B (0.1% N-(1-naphtyl)ethylenediamine, 2HCl)과 혼합한 뒤 5분간 배양하였다. 배양액이 보라색

의 염색성을 띄게 되면 spectrophotometer를 이용하여 540nm 파장에서 흡수율을 측정하였다. Nitrite 농도의 표준곡선은  $\text{NaNO}_3$  ( $10\mu\text{l}$ )로부터 계산되었다.

## 8. Western Blotting

nNOS 단백질 정량을 위하여 보관하여 놓은 단백질 시료를 5배 농축된 SDS sample buffer (1 X 125mM Tris-HCl, pH 6.8, 2% SDS, 5% glycerol, 0.003% bromophenol, 1%  $\beta$ -mercaptoethanol)와 섞어서 98℃에서 5분간 끓인 후 10,000 rpm에서 5~10초간 원심분리한다. 그 후 샘플들을 polyacrylamide gel (nNOS는 7.5% gradient)에 걸어서 전기영동을 실시한다. 그리고 polyvinylidene difluoride membrane에 electrotransfer시킨다. Membrane은 실온에서 blocking buffer (TBS-T에 5% skim milk, 10%  $\text{NAH}_3$ 를 포함)에 blocking을 하고, anti-nNOS antibody (Transduction laboratories, U.S.A.)를 1 : 1,000으로 하여 1시간 동안 반응시킨 후 4℃에서 하룻밤을 배양한다. Membrane을 TBS-T로 3번 10분씩 washing한 후, 실온에서 alkaline phosphatase-conjugated secondary antibody (Anti-rabbit IgG, Santa Cruz Biotechnology Inc., U.S.A.)와 2시간 동안 반응시키고 TBS-T로 3번 10분씩 washing한다. Develop은 ECL (enhanced chemiluminescence, Santa Cruz bio, Inc., U.S.A.) developing kit을 사용하여 발색, 감광시켰다.

## 9. 統計分析

컴퓨터 통계프로그램인 Statview 4.0 (Abacus Concepts Inc., U.S.A.)을 이용하였으며, 실험결과는 Mean±S.E. 로 나타내었고, 통계검정은 one-way ANOVA로 실시하였다. P 값이 0.05 미만인 경우에만 통계적으로 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

## Ⅲ. 實驗結果

### 1. Formalin 유발 痛症에서 요척수 후각의 cFos 면역 단백질 발현과 電鍼刺戟의 效果

본 연구에서는 L3~L5 요척수 후각을 중심으로 superficial layer (SDH, laminae I - II), nuclues proprius (NP, laminae III - IV)와 deep layer (DDH, laminae V, VI, X)로 나누어 cFos 단백질 발현을 비교 관찰하였다. Formalin 주입후 시간의 경과에 따른 요척수 후각 회백질에서 cFos 단백질의 발현양상과 電鍼刺戟에 따른 效果를 관찰하기 위하여 formalin 주입후 1시간과 2시간에 각각 제 3~5번 요척수에서 관찰하였다. 정상상태에서는 척수후각에서 cFos 단백질의 발현이 거의 나타나지 않으나, formalin 주입후 1시간째(Con 1hrs)에 요척수 후각에서 cFos 단백질 발현이 크게 증가하였다(SDH,  $48.64\pm 4.19$ 개; NP,  $22.64\pm 2.52$ 개; DDH,  $45.27\pm 5.41$ 개). 그러나 電鍼刺戟 후 1시간(EA 1hrs)에서는 cFos 단백질 발현의 숫자가

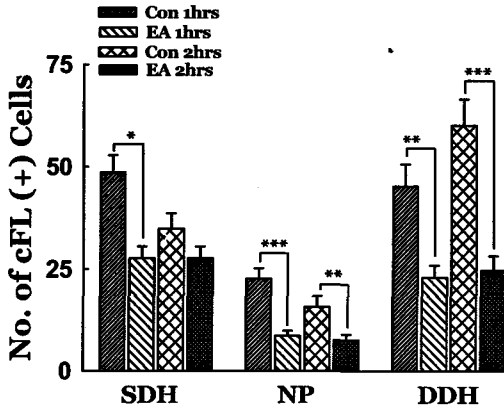


Fig. 1. Effects of electroacupuncture on cFos like protein expression in the spinal cord dorsal horn of L3-5 levels. Con, formalin injection to the left hindpaw; EA, electroacupuncture on the contralateral acupoints of the forepaw to formalin injection; SDH, superficial layer of dorsal horn; NP, nucleus proprius; DDH, deep layer of dorsal horn. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  and \*\*\*  $p < 0.001$  compared with the same time of control, respectively.

유의하게 감소되었다 (SDH,  $27.6 \pm 2.89$ 개,  $p < 0.05$ ; NP,  $8.6 \pm 1.24$ 개,  $p < 0.001$ ; DDH,  $23 \pm 2.93$ 개,  $p < 0.01$ ). Formalin 주입 후 2시간째(Con 2hrs), 척수 후각 심층부( $60.15 \pm 6.43$ 개)가 척수 후각 표층부( $34.85 \pm 3.75$ 개)에 비하여 cFos 단백질 발현이 크게 증가되었다. 그러나 電鍼刺戟 후 2시간(EA 2hrs)에서는 cFos 단백질 발현이 심층부에서 가장 큰 감소를 보여주었다(SDH,  $27.63 \pm 2.83$ 개; NP,  $7.63 \pm 1.35$ 개,  $p < 0.05$ ; DDH,  $24.75 \pm 3.47$ 개,  $p < 0.001$ )(Fig. 1).

## 2. 요척수 후각의 c-Fos 면역 단백질 발현양상과 電鍼刺戟의 下行性 痛症抑制路와의 關係

巨刺法에 근거한 電鍼刺戟으로 족저에 유발된 formalin 痛症의 抑制效果와 鎮痛徑路에 關한 실험을 위하여, 痛症誘發 5일 전에 T10 - 11 수준에서 동측의 배외측속을 손상시켰다. 아울러 위의 실험결과를 통해 전침자극이 formalin 주입 후 2시간 째에서 cFos 단백질 발현을 유의하게 억제하였기 때문에 흰쥐에서 cFos 단백질 발현의 변화를 formalin 주입 후 2시간 째에 관찰하였다. 배외측속 손상동물에서 formalin 주입은 2시간 후, 표층에서  $46.17 \pm 4.51$ 개 ( $p < 0.05$ ), nucleus proprius에서  $24.45 \pm 3.98$ 개 ( $p < 0.05$ ), 심층에서  $60.27 \pm 4.7$ 개가 발현되어 단순히 formalin 주입군에 비하여 유의하게 증가되는 패턴이 관찰되었다(Fig. 2). 배외측속 손상군(DLFX)에서 formalin 유발 痛症에 대한 電鍼刺戟의 效果를 관찰하였을 때, 표층에서는  $40.57 \pm 5.49$ 개, nucleus proprius에서  $14.14 \pm 3.29$ 개, 심층에서  $50.43 \pm 5.88$ 개의 cFos 단백질이 발현되어, nucleus proprius 영역에서만 약간의 감소만이 나타날 뿐, 電鍼刺戟群에서 보여준 유의한 수준의 cFos 단백질 발현 억제는 나타나지 않았다(Fig. 2). 이러한 배외측속의 徑路가 同側 上肢의 任意穴 部位에 가한 電鍼刺戟(Sham-EA)에 의하여 鎮痛效果가 있는지를 관찰한 결과에서는 심층부의 cFos 발현이 억제되는 것을 확인할 수 있었으나( $44.13 \pm 5.10$ 개,  $p < 0.05$ ), 기타 부위에서는 cFos 단백질의 발현이 억제되지 않았다(SDH,  $41 \pm 5.84$ 개; nucleus proprius,  $12.63 \pm 2.34$ 개)(Fig. 2).

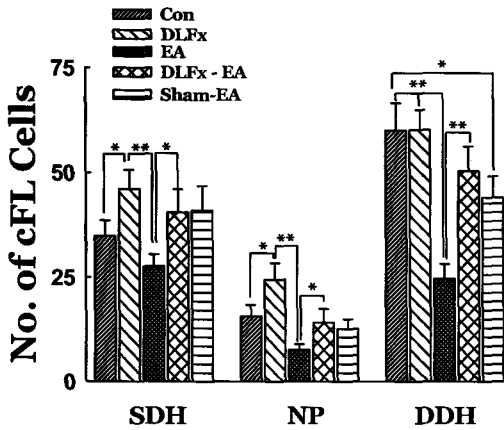


Fig. 2. Effects of transection of the dorsolateral funiculus on cFos like protein expression in the spinal cord dorsal horn of L3-5 levels. Con, formalin injection; DLFx, formalin injection following transection of the dorsolateral funiculus; EA, electroacupuncture followed by formalin injection; DLFx-EA, electroacupuncture and formalin injection following transection of the ipsilateral dorsolateral funiculus; Sham-EA, electroacupuncture on the ipsilateral non-acupoints of the forelimb followed by formalin injection; SDH, superficial layer of dorsal horn; NP, nucleus proprius; DDH, deep layer of dorsal horn. \*  $p < 0.05$  and \*\*  $p < 0.01$  compared with each, respectively.

### 3. 요척수 후각의 c-Fos 면역 단백질 발현양상을 통해 본 電鍼刺戟과 opioid receptors와의 관계

배외측속(DLF)에 의하여 鎮痛效果가 경유된다는 관찰 결과를 바탕으로, DLF내의 opioid receptors가 진통에 작용하는지를 확인하고자 formalin 통증을 유발하기 30분 전에 복강을 통한 naltrexone을 주입하였다. 이후, formalin 주입과 전침자극을 실시하여 cFos 단백질 발현을 관찰하였는데, 표층에서는  $21.5 \pm 2.35$ 개

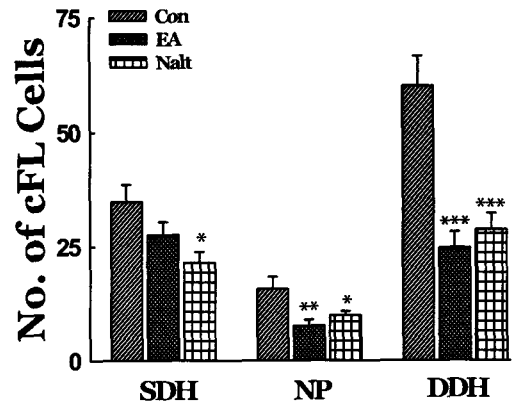


Fig. 3. Effects of transection of the pretreatment of naltrexone on cFos-like protein expression in the spinal cord dorsal horn of L3-5 levels. Con, formalin injection; EA, electroacupuncture followed by formalin injection; Nalt-EA, electroacupuncture followed by formalin injection following pretreatment of naltrexone (10 mg/kg, i.p.); SDH, superficial layer of dorsal horn; NP, nucleus proprius; DDH, deep layer of dorsal horn. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  and \*\*\*  $p < 0.001$  compared with Con, respectively.

( $p < 0.05$ )로 formalin 주입군에 비하여 유의하게 억제되었다. 또한, nucleus proprius에서는  $9.9 \pm 0.94$ 개로 감소된 경향을 나타내었으며, 심층에서는  $28.7 \pm 3.55$ 개( $p < 0.01$ )로 電鍼刺戟群과 같은 수준의 발현억제를 나타내었다(Fig. 3). 이로써, 巨刺法에 의한 電鍼刺戟은 formalin 유발痛症을 억제하는 鎮痛作用이 opioid 수용체와는 무관하게 나타남을 확인하였다.

### 4. EA 진통과정에 관한 nitric oxide 발현 변화

본 실험에서는 앞에서 전침자극과 cFos 발현과의 관계를 구체적으로 검증하고자 전침자극

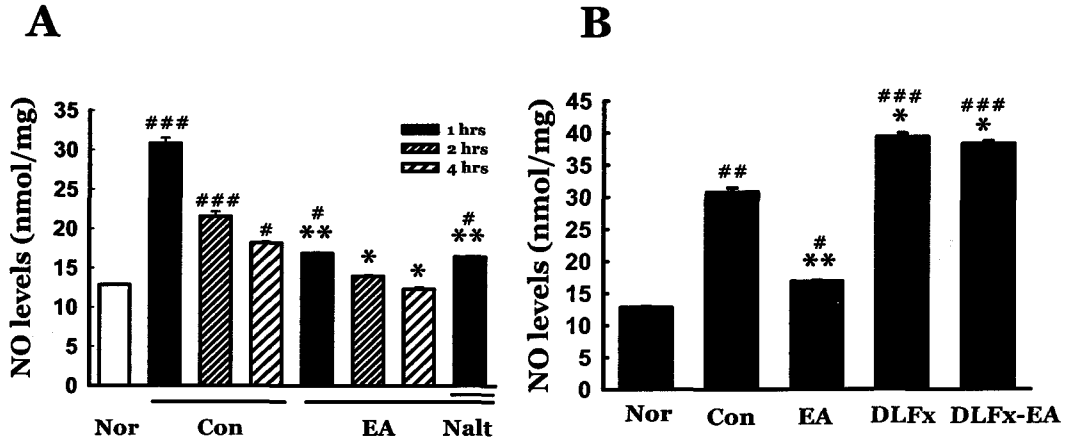


Fig. 4. Effects of EA on nitrite/nitrate levels of the spinal cord. NO production on the spinal cord was measured by Griess reaction assay method as described in the Methods section. (A) represented the effect of EA on formalin induced pain. (B) represented the effect of dorsolateral funiculus lesion on EA analgesia. Notations are the same as previous figures. Values are mean±S.E.M. \* and #, p<0.05; \*\* and ##, p<0.01; \*\*\* and ###, p < 0.001. \* and # of significance was compared with control and normal, respectively.

에 의하여 척수수준에서 산화질소(nitric oxide, NO) 및 nNOS가 어떻게 변화하는지를 확인하였다.

Formalin 주입후 시간에 따른 NO의 발현수준 변화는 대조군(Con)의 경우, formalin 주입 1시간 후에 30.8±0.69 nmol/mg으로가장 크게 증가하고 있으며, 2시간과 4시간 후에 각각 21.55±0.61 nmol/mg과 18.17±0.2 nmol/mg로 시간에 따라 점차 감소하였다. 이는 정상동물(Nor)의 12.84±0.13 nmol/mg 보다는 유의하게 증가된 패턴을 보이고 있다(Fig. 4). 전침자극군(EA)에서는 formalin 주입으로 증가된 NO가 1시간에 16.87±0.17 nmol/mg, 2시간에 13.98±0.13 nmol/mg, 그리고 4시간에 12.34±0.21 nmol/mg로 유의하게 감소된 것을 볼 수 있다. 더욱이 이러한 감소현상이 naltrexone을 전처

리한 실험군(Nalt)에서도 16.43±0.13 nmol/mg의 수준으로 감소를 보였는데(Fig. 4-A), 이는 cFos 발현을 관찰한 이상의 실험결과와 동일한 경향을 보여주고 있다. 또한 전침자극에 의한 진통효과가 억제되었던 배외측손상군(DLFx)에서 formalin 통증 유발 후 1시간째 NO량을 관찰한 결과에서 DLF가 정상인 대조군(Con)의 경우 전침자극으로 NO의 감소를 나타내고 있지만, DLF 손상군(DLFx)의 경우에는 전침자극이 가하여지지 않은 상태에서는 39.38±0.52 nmol/mg 이었으며, 전침자극이 가하여질때도 38.29±0.42 nmol/mg로 대조군의 전침자극에 의한 NO 발현 억제와 같은 효과가 나타나지 않았다(Fig. 4). 이로써, 요척수에서의 cFos 발현과 NO 발현량 사이에 상관관계가 성립되며, 또한 전침자극이 NO의 발현에도 영향



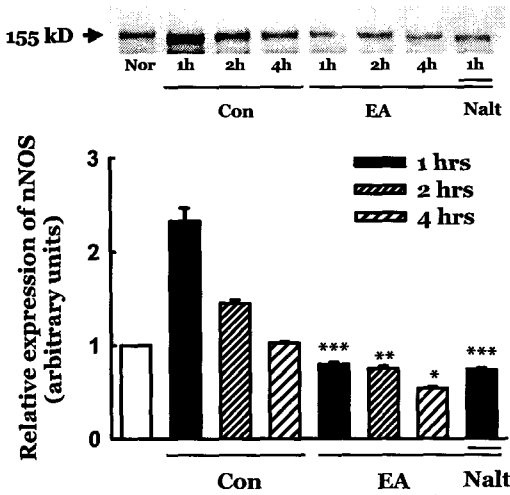


Fig. 5. Effects of electroacupuncture and naltrexone (Nalt-EA) on nNOS expression in the spinal cord L1-S1 levels at 1h, 2 h and 4 after formalin injection. Molecular weight of protein band corresponded well to that of nNOS. Each lane was loaded with 30 $\mu$ g protein. Number of each group was 6. Values are mean $\pm$ S.E.M. \* and #, p<0.05; \*\* and ##, p<0.01; \*\*\* and ###, p < 0.001. \* and # of significance was compared with control and normal, respectively.

을 끼치는 것을 알 수 있다.

이러한 NO의 변화와 관련하여, 요척수 수준에서의 nNOS 단백질 발현을 함께 관찰하기 위하여 western blotting법을 이용한 단백질 정량을 시도하였다. 그결과, NO량의 변화와 같은 양상을 관찰할 수 있었다. 즉, formalin induced pain에 의하여 요척수의 nNOS의 발현은 정상군(Nor)에 비하여, 1시간에 2.33 $\pm$ 0.14, 2시간에 1.45 $\pm$ 0.04로 증가하였고, 4시간 후에는 1.03 $\pm$ 0.01로 감소되었다. 전침자극은 이러한 nNOS의 발현을 유의하게 억제하여, 정상군에 비하여 1시간에 0.8 $\pm$ 0.03, 2시간에 0.75 $\pm$ 0.02, 그리

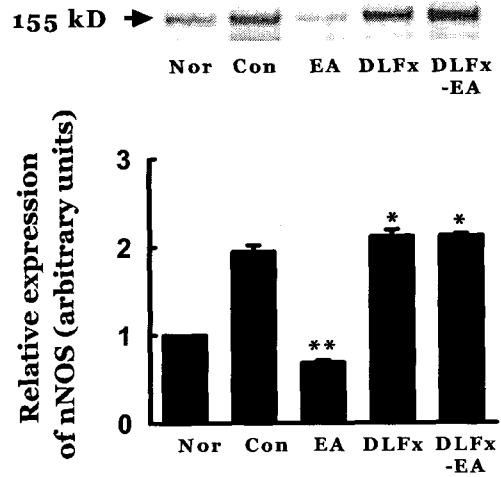


Fig. 6. Effects of transection of the dorsolateral funiculus (DLFx) on EA analgesia at 1 hrs after formalin injection. Each lane was loaded with 30 $\mu$ g protein. Number of each group was 6. Values are mean $\pm$ S.E.M. \* p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p < 0.001 compared with control.

고 4시간에는 0.54 $\pm$ 0.02로 감소되었다(Fig. 5). 전침자극의 nNOS 발현 억제효과는 naltrexone 전처리군에서 약 0.74 $\pm$ 0.02로 억제됨으로써, opioid 길항작용에 의하여 영향받지 않았으나 (Fig. 5), DLF 손상에 의하여 nNOS의 발현은 정상군에 비하여 2.12 $\pm$ 0.07로 큰 증가를 보였고 이에 대한 전침자극에는 2.13 $\pm$ 0.03으로 억제되지 않았다(Fig. 6).

#### IV. 考 察

Formalin induced pain은 흰쥐의 하지 족저 부위에 희석된 formalin을 피하에 주입하여 약물주입 직후부터 약 5분간 발생하는 제 1차 통증과 이후 통증反應이 소실된 후 20분~60분

이상까지 지속되는 제 2차 痛症反應을 유발하는 것이다. formalin induced pain의 특징을 살펴 보면, 탈수초신경인 c-fiber의 흥분성을 증가시키며<sup>15)</sup>, wide dynamic range (WDR) 신경세포를 포함한 감각신경세포들의 자발활동성을 증가시키는 것으로 보고되었다<sup>16)</sup>. 특히 2차 痛症反應(late phase)은 formalin이 피하에 위치한 痛症감각 수용체들의 직접적인 자극에 의하여 A $\delta$ , C 감각신경섬유들이 흥분이 척수 표층부에 존재하는 WDR 신경세포들의 자발활동성을 직접적으로 증가시킴으로써 나타난다고 제시하며, 척수에서 glutamate, substance P, NO 등 신경전달물질이 증가되는 것으로 알려져 있다<sup>17,18)</sup>.

巨刺는 經刺라고도 칭하며, 이론적 근거는 “痛在於左 而右脈病者 巨刺之”《素問 調經論》<sup>1)</sup>와 “邪客於經 左盛即右病 右盛即左病 亦有移易者 左痛未已 而右脈先病 如此者 必巨刺之 必中其經 非絡脈也”《黃帝內經 素問 繆刺論篇》<sup>1)</sup>, “從腰以上者 手太陰陽明皆主之 從腰以下者 足太陰陽明皆主之 病在上者 下取之 病在下者 高取之 病在頭者 取之足 病在腰者取之臑...治病者 先刺其病所從生者也.”《靈樞 終始篇》<sup>2)</sup>라고 하여, 한쪽의 邪氣가 偏盛하여 반대쪽에 疼痛이 발생되면 먼저 健側 俞穴에 瀉法으로 刺鍼하여 邪氣를 제거함으로써 陰陽의 평형을 이루게 한다. 그리하여, 질병 부위와 上下로 對稱되는 부위에 대한 치료작용을 이론적으로 제시하고 있다. 이러한 巨刺法의 원리는 근대에 와서는 각종 刺鍼法의 발달을 통해 巨刺法의 效果를 검증하였으며<sup>19)</sup>, 오늘날에도 여전히 실용적 가치가 있어 中風의 半身不遂, 顔面神經麻痺, 足部 및 腰部 등 各種捻挫, 坐骨神經痛 등에 巨刺法을 이용하여

모두 좋은 臨床效果를 보고 있다<sup>9,10)</sup>.

유해성 자극 정보의 중추로 상행할 때 생체는 생리적으로 痛症 방어기전을 활성화시키는 것으로 알려져 있는데, 최근 들어 이러한 방어기전 중 巨刺法과 유관한 徑路가 몇가지로 제시되고 있다. 첫째로는 뇌간의 periaqueductal grey (PAG)가 STT의 일부가 연결되어 nucleus raphe magnus (NRM)와 nucleus reticularis paraginantocellularis (Rpc) 등을 거쳐, dorsolateral funiculus (DLF)를 통해 척수 후각으로 연결되어 鎮痛역할을 담당한다는 supraspinal descending pathways이며<sup>22)</sup>, 두 번째로는 Le Bars 등<sup>23)</sup>이 마취된 흰쥐에서 척수후각과 삼차신경핵의 폭주성 신경세포(convergent neurons)의 신경활동성이 흥분된 말초수용영역과는 거리가 먼 신체 다른 영역에 가한 유해성 전기자극에 의하여 억제된다는 diffuse noxious inhibitory controls (DNIC)이다. 아울러, 셋째는 뒤늦게 밝혀진 것으로 상위 경추(upper cervical)의 C1-C2의 nucleus proprius에 존재하는 고유감각성 신경세포들(propriospinal neurons)이 요척수까지 하행성 투사되어 요척수(L5 - S1) 신경세포의 구심성 흥분을 억제할 수 있다는 propriospinal neurones connecting different spinal cord segments<sup>24)</sup>이다.

아울러 본 실험에서 관찰되어진 nitric oxide (NO)는 중추신경계와 말초신경계에서 시냅스 간 신호를 전송하는 중요한 신경전달자이다. NO는 nitric oxide synthase (NOS)의 작용을

통해 아미노산 L-arginine으로부터 형성되며, NOS의 일종인 nNOS (neural NOS)는 척수 후각의 표층에 주로 집중되어있어 감각정보 처리에 있어서 척수의 nitric oxide에 중요한 역할을 담당하게 한다고 한다<sup>25)</sup>. 통증반응과의 상관관계에 대한 연구를 보면, NOS inhibitor인 L-NAME (NG-nitro-L-arginine methyl ester)를 주입하였을 때 formalin 유발통증 또는 capsaicin 유발통증 반응을 감소시켰고, 이러한 효과를 근거로 말초의 화학적 자극이 척수에서 NO의 유리가 증가시킨다는 것이다<sup>26)</sup>. 또한, formalin 주입으로 nNOS 양성반응 신경세포의 수가 요척수 후각에서 크게 증가하였고<sup>27)</sup>, nitric oxide synthetase (NOS) 억제제를 척수내 주입할 경우 유해성 자극으로 유발된 통증반응과 척수의 c-Fos 발현을 억제하였다<sup>28)</sup>. 이는 앞에서 언급하였던 cFos 단백질의 발현과정에 NO의 촉진적인 역할을 추정할 수 있는데, 최근에 발표된 연구결과에서는 cFos 발현에 NO가 중계 역할을 담당하고 있음을 확인하고 있으며<sup>29)</sup>, 아울러 nitric oxide가 척수에서 말초의 유해성 자극을 척수시상로를 통해 중추로 전달하는 역할을 할 수 있음이 추정되고 있다. 이를 뒷받침할 수 있는 증거로는 척수시상로(STT)에서의 cFos와 NOS 발현이 일치는 경향을 보였고, 더욱이 척수 표층(laminae I & II)에서 발현된 cFos 양성반응 세포의 40%에서 NOS 발현이 관찰된다는 것이 보고되었다<sup>30)</sup>. 또한 DLF 손상으로 cFos 발현증가와 유사한 반응을 NOS inhibitor인 N<sup>ω</sup>-Nitro-L-argini-

ne (L-NNA)를 척수강으로 주입하여 관찰한 결과, 일부에서 NO가 하행성 통증억제기전에 관여되어 있음을 언급하고 있다<sup>31)</sup>. 이를 종합하면, 척수수준의 NO 증가가 cFos 발현 증가로 이어진다는 점을 확인할 수 있는 것이다. 그외에도, NMDA와 substance P의 역할에 NO가 관련되어 있음을 언급하고 있는데, 역시 cFos 발현에 NMDA receptor의 흥분이 관여되고 있음을 고려할 때 당연한 결과라고 할 수 있다<sup>32)</sup>.

최근 연구에서, lidocaine 또는 DLF의 손상으로 뇌간에서 척수로 하행하는 徑路를 제거할 경우, 하지의 염증으로 유발되는 痛症反應이 증가하는 것을 보여주고 있다<sup>33)</sup>. 아울러 흉추수준에서 DLF를 손상시켰을 때, formalin 유발 痛症으로 인한 요추 후각신경세포에서의 cFos 발현이 증가되는 것을 보고하며, DLF에 존재하는 하행성 신경섬유가 유해자극에 의하여 발현되는 cFos를 억제할 수 있다는 것을 주장하였다<sup>34)</sup>. Liu 등<sup>35)</sup>은 DLF의 하행성 섬유에 의한 억제작용이 NE 또는 5-HT와 같은 신경전달물질에 의하여 유발되며, opioid receptor는 이중 NE성 徑路를 중개하는 것으로 보여진다고 주장하였다. 이러한 결과는 동측 또는 반대측에 행한 자극이 DLF를 통해 하행성 억제경로를 활성화할 수 있다는 것을 보여주는 것이다.

본 연구에서는 formalin 유발통증에서 巨刺法에 근거한 전침자극의 진통효과는 척수수준에서 관찰한 cFos 단백질 발현과 NO 및 nNOS 발현량도 유의한 수준으로 억제하는 것이 관찰되었다. 이와는 별도로 본 실험에서 확

인된 것은, 이미 기존의 다른 연구그룹에서 제안하였던 것처럼, NO가 pain의 정도를 반영한다는 것과 또한 NO가 cFos 발현을 증계한다는 것이 본 실험에서도 확인할 수 있었다. 즉, NO 및 nNOS는 formalin 주입후 1시간째에 가장 증가하였고, 이후 시간에 따라 점차 감소하였다. 이는 cFos 발현이 가장 유의하게 증가하는 시간이 2시간째라는 사실을 통해 유추하여 볼 수 있는 것이다.

鍼刺鎮痛과 descending inhibitory system에 관계에 대한 연구도 상당히 진행되었지만, 鎮痛徑路와 관련하여 여전히 opioid가 관여된 체계가 중심이 되어 hypophysectomy와 제3뇌실에 대한  $\beta$ -endorphin의 antiserum 주입을 통한 鎮痛 억제효과<sup>36)</sup>와 EA가 PAG 흥분을 통한 endogenous opioid와 5-HT의 분비촉진으로 痛症 조절<sup>37)</sup> 등이 제시되었다. 그러나, EA에 의한 鎮痛效果가 naloxone에 의하여 차단된다는 Mayer의 주장과는 일치하지 않는 의견으로 Watkins 등과 Polmeranz 등<sup>38)</sup>은 EA를 시술하기 전에 opiate antagonist인 nalrexone을 투여하면 鎮痛效果가 억제되는 반면 EA를 시술한 후에 naltrexone을 투여하면 鎮痛效果가 차단되지 않는다는 연구결과를 발표하였다. 이러한 결과에 대해 Pomeranz 등은 endogenous opiate의 일차적인 鎮痛效果와 non-opioid에 의하여 매개되는 이차적인 鎮痛效果가 있음을 언급하였다<sup>39)</sup>. 본 연구결과에서도 opioid receptors가 진통에 작용하는지를 확인하고자 formalin 통증을 유발하기 15분전에 naltrexone

을 주입하고, formalin 주입과 전침자극을 실시하여 cFos 면역 단백을 관찰하였는데, 電鍼刺戟群과 같은 수준의 발현억제를 나타내었다. 이로써, 巨刺法에 의한 電鍼刺戟은 formalin 유발 痛症을 억제하는 鎮痛作用이 opioid 수용체와는 무관하게 나타남을 확인하였다.

본 연구의 결과와 기존의 다른 연구와 비교하여 고려할 점은 본 鍼刺鎮痛 실험에서 사용되는 동물모델이다. 즉, 鍼刺鎮痛 문제가 내재 진통계와 연계된 경우의 대개는 정상동물에서의 鍼刺戟과 그에 따른 유해성자극에 대한 반응성을 관찰한 경우가 가장 많으며, 본 연구에서 처럼, 이미 痛症이 유발된 경우의 鎮痛문제는 鍼刺戟이 鎮痛徑路를 활성화시키기 이전에 생체자체가 생리적으로 痛症에 대한 억제기전을 활성화시킨 상태라고 보아야 한다. 물론, formalin test와 관련한 鍼刺戟 실험들이 몇몇에서 수행되었지만, 그 경우는 앞서서도 설명한 것처럼 opioid 수용체와 관계가 잘 알려진 經穴이나 아니면 痛症인접부위의 經穴이었다. 결국, 鍼刺戟이 鎮痛徑路에 작용하는 문제가 정상상태와 기타 다른 연구조건과는 매우 다를 것이며, 결국 본 연구결과에서 naltrexone 전처리 된 동물에서 formalin 유발 痛症에 대한 電鍼刺戟의 鎮痛效果가 유의하게 억제되지 않는 이유는 병리적 상태에서 鎮痛徑路에 opioid 이외에 많은 인자들이 복합되어 있을 것이라는 추측으로 해석하여야 할 것이다. 이를 뒷받침하는 예로, 鍼刺戟을 통한 鎮痛效果는 동양문명에서 고대 이후 계속되어 내려온 경험과 지

식의 축적이며, 이러한 치료법은 단순히 정상인에게서 확인된 것이 아닌 각종 질병에 의하여 고통받는 환자에게서 얻어진 결과이다. 최근, 임상연구를 예를 들면 鍼刺戟이 morphine 과 같은 opioid 약물로는 제어되지 않는 각종 약성痛症- 예, 암성痛症- 등에 긍정적인 鎮痛效果를 나타내고 있다는 점을 들 수 있다<sup>40)</sup>.

본 연구결과에서는 배외측속(DLF) 손상동물에서 電鍼刺戟의 鎮痛徑路를 관찰하고자 하였는데, formalin test전에 T10 - 11 수준에서 동측의 배외측속을 손상시킨 흰쥐에서 formalin 誘發 痛症에서 電鍼刺戟이 증가된 cFos 발현을 억제하지 못하였다. 즉, 배외측속 손상동물에서 formalin 주입은 정상동물의 formalin 주입군에 비하여 유의하게 증가된 발현을 나타내었다. 배외측속 손상군(DLFx)에서 formalin 유발 痛症에 대한 電鍼刺戟의 效果를 관찰하였을 때, nucleus proprius 영역에서만 약간의 감소만이 나타날 뿐, 電鍼刺戟群에서 보여준 유의한 수준의 cFos 단백질 발현 억제는 나타나지 않았다. 이는 巨刺法의 중요한 鎮痛徑路가 배외측속이라는 것을 증명하는 것이다.

본 연구 결과를 통하여 배외측속(DLF)을 통한 해부학적 徑路가 가장 크게 鎮痛徑路로 작용하였고, 반면 opioid성 내재진통계는 비중이 약한 것으로 관찰되었다는 점은 기존 연구에서 DLF와 opioid 물질간의 밀접성과는 상충되는 부분이 있다. 하지만, 앞서 보여준 기존의 다양한 연구들은 opioid 非依存性 鎮痛徑路가 DLF 내에 있음을 추정하여 볼 수 있게 하고 있다.

물론, 鍼刺鎮痛에 관련하여 內在鎮痛係의 역할을 배제할 수 없으나, 최근에 다양한 鍼刺鎮痛 徑路가 계속하여 언급되고 있는 점과 鍼刺鎮痛의 徑路가 한가지가 아닌 다양한 鎮痛徑路를 복합적으로 이용하고 있는 점을 추측할 수 있을 것이다. 이에 본 연구결과는 鍼刺鎮痛의 다양성을 추구할 수 있는 점에서 그 의의를 찾을 수 있을 것이라 생각되어진다. 물론, 이러한 鎮痛徑路에 직접적이고, 강력한 매개 물질을 확인하기 위한 연구가 보강되어야 할 것이다.

## V. 結 論

本 研究은 흰쥐에게 formalin을 주입하여 痛症을 유발시킨 뒤, 巨刺法을 근거로 한 電鍼刺戟이 진통효과가 있는지를 관찰하고 아울러 이러한 진통작용의 경로가 무엇인지를 밝히고자 하였다.

1. 전침자극은 formalin induced pain 유발후 요척수의 cFos, NO 및 nNOS 발현량을 관찰한 결과에서 cFos 면역 단백질 발현이 전침자극에 의하여 척수후각에서 유의하게 억제되는 것이 관찰되었으며, 요척수 전체의 NO와 nNOS 단백질을 정량화한 관찰에서도 같은 결과를 관찰하였다.
2. 전침자극의 하행성 통증 억제경로와의 관계에서 DLF 손상후 formalin 유발 통증은 전침자극에 의하여 cFos, NO 및 nNOS 발현이 억제되지 않았다.

3. 전침자극의 진통효과를 반영하는 요척수의 cFos, NO 및 nNOS 발현이 naltrexone 투여에 의하여 길항되지 않았다.

이상의 실험결과를 종합하여 보면, 巨刺法에 근거한 전침자극은 formalin 유발 통증을 억제하는 진통효과는 opioid 수용체의 역할보다는 배외측속(dorsolateral funiculus)의 역할이 더욱 중요하게 작용하는 것을 관찰할 수 있었다. 다만 어떠한 신경전달물질이 진통작용에 관여하는지와 관련한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

### 參 考 文 獻

1. 郭靄春. 黃帝內經 素問校注語譯. 서울 : 醫聖堂. 1993 : 356-9.
2. 郭靄春. 黃帝內經 靈樞校注語譯. 서울 : 醫聖堂. 1993 : 72-9.
3. Hao S, Takahata O, Iwasaki H. Electroacupuncture potentiates the antinociceptive effect of intrathecal endomorphin-1 in the rat formalin test. *Neurosci Lett.* 2000 ; 287(1) : 9-12.
4. Hsieh CL, Kuo CC, Chen YS, Li TC, Hsieh CT, Lao CJ, et al. Analgesic effect of electric stimulation of peripheral nerves with different electric frequencies using the formalin test. *Am J Chin Med.* 2000 ; 28(2) : 291-9.
5. Brennan TJ, Oh UT, Hobbs SF, Garrison DW, Foreman RD. Urinary bladder and hindlimb afferent input inhibits activity of primate T2-T5 spinothalamic tract neurons. *J Neurophysiol.* 1989 ; 61(3) : 573-88.
6. Cadden SW, Villanueva L, Chitour D, Le Bars D. Depression of activities of dorsal horn convergent neurones by propriospinal mechanisms triggered by noxious inputs; comparison with diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). *Brain Res.* 1983 ; 275(1) : 1-11.
7. Gerhart KD, Yeziarski RP, Giesler GJ Jr, Willis WD. Inhibitory receptive fields of primate spinothalamic tract cells. *J Neurophysiol.* 1981 ; 46 : 1309-25.
8. Hobbs SF, Oh UT, Chandler MJ, Fu QG, Bolser DC, Foreman RD. Evidence that C1 and C2 propriospinal neurons mediate the inhibitory effects of viscerosomatic spinal afferent input on primate spinothalamic tract neurons. *J Neurophysiol.* 1992 ; 67 : 852-60.
9. 김재효, 최동욱, 김민선, 박병림, 손인철. 흰 쥐 족저에 formalin 주입으로 유발된 통증반응에 대한 전침 효과. *대한한의학회지.* 2002 ; 23(2) : 97-107.
10. Kim JH, Gwak YS, Lee I, Sohn IC, Kim MS, Choi DO, et al. Antinociceptive effects of heterotopic electroacupuncture in for-

- malin-induced pain. *Am J Chin Med.* 2006 ; 34(4) : 565-74.
11. Gogas KR, Presley RW, Levine JD, Basbaum AI. The antinociceptive action of supraspinal opioids results from an increase in descending inhibitory control: correlation of nociceptive behavior and c-fos expression. *Neuroscience.* 1991 ; 42(3) : 617-28.
  12. Persley RW, Menetrey D, Levine JD, Basbaum AI. Systemic morphine suppresses noxious stimulus-evoked Fos protein-like immunoreactivity in the rat spinal cord. *J Neurosci.* 1990 ; 10 : 37-44.
  13. Dun NJ, Dun SL, Forstermann U, Tseng LF. Nitric oxide synthase immunoreactivity in rat spinal cord. *Neurosci Lett.* 1992 ; 147(2) : 217-20.
  14. Sakurada T, Sugiyama A, Sakurada C, Tanno K, Sakurada S, Kisara K, et al. Involvement of nitric oxide in spinally mediated capsaicin- and glutamate-induced behavioural responses in the mouse. *Neurochem Int.* 1996 ; 29(3) : 271-8.
  15. McCall WD, Tanner KD, Levine JD. Formalin induces biphasic activity in c-fibers in the rat. *Neurosci Lett.* 1996 ; 208(1) : 45-8.
  16. Dickenson AH and Sullivan AF. Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neuron in the rat: differential response to an intrathecal opiate administered pre or post formalin. *Pain.* 1987 ; 30 : 349-60.
  17. Dickenson AH, Sullivan AF. Differential effects of excitatory amino acid antagonist on dorsal horn nociceptive neurones in the rat. *Brain Res.* 1990 ; 506 : 31-9.
  18. Haley JE, Dickenson AH, Schachter M. Electrophysiological evidence for a role of nitric oxide in prolonged chemical nociception in the rat. *Neuropharmacology.* 1992 ; 31(3) : 251-8.
  19. 楊維傑. 鍼灸經緯. 臺北 : 樂群出版事業有限公司. 1979 ; 293-5.
  20. 조남근, 김경식. 捻挫의 鍼治療에 관한 연구. 대한침구학회지. 1995 ; 12(1) : 73-8.
  21. 임사비나, 이해정. 選穴規律(繆刺 및 巨刺法)에 따른 刺鍼이 白鼠足部腫脹 및 血清 Cholinesterate 活性에 미치는 影響. 大韓針灸學會誌. 1988 ; 5(1) : 39-45.
  22. Stamford JA. Descending control of Pain. *Br J Anaesth.* 1995 ; (75) : 217-27.
  23. Le Bars D, Dickenson AH, Besson JM. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat. *Pain.* 1979 ; 6(3) : 283-304.
  24. Menetrey D, de Pommery J, Roudier F. Propriospinal fibers reaching the lumbar enlargement in the rat. *Neurosci Lett.* 1985 ; 58(2) : 257-61.

25. Terenghi G, Riveros-Moreno V, Hudson LD, Ibrahim NB, Polak JM, Immunohistochemistry of nitric oxide synthase demonstrates immunoreactive neurons in spinal cord and dorsal root ganglia of man and rat. *J Neurol Sci* 1993 ; 118(1) : 34-7.
26. Moore PK, Oluyomi AO, Babbedge RC, Wallace P, Hart SL. L-NG-nitro arginine methyl ester exhibits antinociceptive activity in the mouse. *Br J Pharmacol.* 1991 ; 102(1) : 198-202.
27. Lam HH, Hanley DF, Trapp BD, Saito S, Raja S, Dawson TM, et al. Induction of spinal cord neuronal nitric oxide synthase (NOS) after formalin injection in the rat hind paw. *Neurosci Lett.* 1996 ; 210(3) : 201-4.
28. Honore P, Chapman V, Buritova J, Besson JM. Reduction of carrageenin oedema and the associated c-Fos expression in the rat lumbar spinal cord by nitric oxide synthase inhibitor. *Br J Pharmacol.* 1995 ; 114(1) : 77-84.
29. Wu J, Fang L, Lin Q, Willis WD. Fos expression is induced by increased nitric oxide release in rat spinal cord dorsal horn. *Neuroscience.* 2000 ; 96(2) : 351-7.
30. Lee JH, Price RH, Williams FG, Mayer B, Beitz AJ. Nitric oxide synthase is found in some spinothalamic neurons and in neuronal processes that appose spinal neurons that express Fos induced by noxious stimulation. *Brain Res.* 1993 ; 608(2) : 324-33.
31. Gao WC, Qiao JT. Nitric oxide contributes to both spinal nociceptive transmission and its descending inhibition in rats: an immunocytochemical study. *Neurosci Lett.* 1998 ; 240(3) : 143-6.
32. Malmberg AB, Yaksh TL. Spinal nitric oxide synthesis inhibition blocks NMDA-induced thermal hyperalgesia and produces antinociception in the formalin test in rats. *Pain.* 1993 ; 54(3) : 291-300.
33. Wei F, Ren K, Dubner R. Inflammation-induced Fos protein expression in the rat spinal cord is enhanced following dorsolateral or ventrolateral funiculus lesions. *Brain Res.* 1998 ; 782 : 136-41.
34. Zhang RX, Wang R, Chen JY, Qiao JT. Effects of descending inhibitory systems on the c-Fos expression in the rat spinal cord during formalin-induced noxious stimulation. *Neuroscience.* 1994 ; 58(2) : 299-304.
35. Liu RJ, Zhang RX, Qiao JT, Dafny N. Interrelations of opioids with monoamines in descending inhibition of nociceptive transmission at the spinal level: an immunocytochemical study. *Brain Res.* 1999



白鼠의 formalin 誘發 痛症에 대한 電鍼刺戟과 下行성 진통기전

- ; 830(1) : 183-90.
36. Liu X, Zhu B, Zhang SX. Relationship between Electroacupuncture Analgesia and Descending Pain inhibitory mechanism of Nucleus Raphe Magnus. Pain. 1986 ; 24(3) : 383-96.
37. He L. Involvement of endogenous opioid peptides in acuuncture analgesia. Pain. 1987 : 31 : 99-121.
38. Watkins LR, Mayer DJ. Organization of endogenous opiate and non-opiate pain control system. Science. 1982 ; 216 : 1185-92.
39. Pomeranz B, Warma N. Electroacupuncture suppression of a nociceptive reflex is potentiated by two repeated electroacupuncture treatments; the first opioid effect potentiates a second non-opioid effect. Brain Res. 1988 ; 452(1-2) : 232-6.
40. Wong R, Sagar CM, Sagar SM. Integration of Chinese medicine into supportive cancer care: a modern role for an ancient tradition. Cancer Treat Rev. 2001 ; 27(4) : 235-46.