

# 太衝(LR3)에 대한 迎隨 및 捻轉補瀉가 intraluminal filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 focal ischemia에 미치는 影響

박종승<sup>1</sup> · 윤대환<sup>1</sup> · 나창수<sup>1</sup> · 조명래<sup>2</sup> · 정연진<sup>4</sup> · 정지연<sup>4</sup> · 김원재<sup>4</sup> · 최찬헌<sup>3</sup>

동신대학교 한의과대학 <sup>1</sup>경혈학교실, <sup>2</sup>침구학교실, <sup>3</sup>생리학교실 <sup>4</sup>전남대학교 치의학전문대학원 치의학연구소

## Anti-apoptotic and neuroprotective effects of acupuncture techniques of tonification or sedation at LR3 on focal brain ischemic injury induced by intraluminal filament insertion in rats

Jong-Seung Park<sup>1</sup>, Dae-Hwan Youn<sup>1</sup>, Chang-Su Na<sup>1</sup>, Myeng-rae Cho<sup>2</sup>,  
Yeon-Jin Jung<sup>4</sup>, Ji-Yeon Jeong<sup>4</sup>, Won-Jae Kim<sup>4</sup>, Chan-Hun Choi<sup>3</sup>

Dept. of <sup>1</sup>Acupuncture & Moxibustion, <sup>2</sup>Meridian and Acupoint, <sup>3</sup>Oriental Medicine College of Oriental Medicine, Dong-Shin University.

<sup>4</sup>Dental Science Research Institute, School of Dentistry Chonnam National University

### Abstract

**Objectives :** Acupuncture using a tonification or sedation techniques method is used as a controlling the medication for an early stroke in the Korean medicine. LR3 has indicators of headache, vertigo, facial paralysis, apoplexy, epilepsy as the source acupoint of a liver meridian. So this study is aims to investigate the anti-apoptotic and neuroprotective effects of acupuncture on the focal ischemia induced by intraluminal filament insertion in rats.

**Methods :** The focal ischemia was induced by intraluminal filament insertion into middle cerebral artery. The animals were divided into seven groups (n=8 in each group) : Normal, intactness group; Control group, no therapy group after being ischemia induced; MA-1, acupuncture perpendicularly without Tonification or Sedation techniques at LR3 after being ischemia induced; MA-2, acupuncture obliquely towards the knee at LR3 after being ischemia induced; MA-3, acupuncture obliquely towards the toe at LR3 after being ischemia induced; MA-4, acupuncture obliquely towards the knee and rotate 9 times in a clockwise direction at LR3 after being ischemia induced; MA-5, acupuncture obliquely towards the toe and rotate 6 times in a counterclockwise direction at LR3 after being ischemia induced. The anti-apoptotic and neuroprotective effects of Acupuncture techniques of tonification or sedation at LR3 are observed by mGluR5, Bax, Cresyl violet, ChAT-stain and NGF.

**Results :** The intensity of mGluR5 and the density of ChAT was increased in MA-1 group. The intensity of Bax was decreased in MA-3, MA-4 group. The density of neurons stained by Cresyl violet and ChAT was increased in MA-2, MA-3, MA-4, MA-5 group. The density of neurons stained by NGF was only increased in MA-4 group.

· 교신저자 : 윤대환, 전남 나주시 대호동 252 동신대학교 한의과대학  
경혈학교실, Tel. 061-330-3527, Fax. 061-330-2900,  
E-mail : human22@dsu.ac.kr  
· 투고 : 2006/08/29 · 심사 : 2006/09/04 · 채택 : 2006/09/11

**Conclusions :** Our study suggests that acupuncture perpendicularly without Tonification or Sedation techniques and obliquely towards the knee and rotate 9 times in a clockwise direction(Tonifying technique) at LR3 after being ischemia induced at LR3 shows anti-apoptotic and neuroprotective effects on cholinergic neuron in focal cerebral ischemia of the stroke in rats.

**Key words :** Apoptosis, ischemia, acupuncture techniques, LR3

## I. 緒 論

鍼刺療法는 韓醫學의 傳統의인 基礎理論과 장기간에 걸친 治療經驗을 바탕으로 그 操作方法인 手技法의 研究와 함께 發展되어 왔다. 手技方法에 대해서는 《黃帝內經》에 처음 記述된 이래 歷代 鍼灸書籍에 기록되어 왔으며, 臨床의으로 활용되는 과정에서 다양한 補瀉方法과 手技法이 개발되어 現代 鍼灸療法에서도 중요한 이론으로 남아있다. 鍼灸補瀉法에 있어서 補와 瀉의 개념은 《素問·通評虛實論》에 “邪氣盛則實, 正氣奪則虛”라 하였고, 《素問·瘧論》에는 “有餘者瀉之, 不足者補之”라 하였듯이, 여러 가지 手技操作을 통하여, 實證에는 瀉法을 虛證에는 補法을 사용한다고 하였다. 즉, 氣血의 盛衰와 正邪의 虛實에 따라 補瀉手技方法을 달리하게 되는데, 이들 방법은 時代와 學者들의 견해에 따라 여러 가지로 變形되어 왔다<sup>1)</sup>.

太衝(LR3)은 《靈樞·九鍼十二原論》<sup>2)</sup>에 언급한 바와 같이 足厥陰肝經의 큰 통로이면서 衝脈의 支別處가 되어 兩脈氣가 相合하여 盛大하다는 의미를 갖으며, 輸土穴 및 原穴에 속하여, 中風, 高血壓, 眩暈, 頭痛등 頭部の 氣血循環阻滯로 인한 증상들에 활용되고 있다.

최근 연구로는 손 등<sup>3)</sup>은 흰쥐의 太衝(LR3)에 전침자극이 도파민 매개경로나 세로토닌 매개경로 등의 신경원에서 대사활성의 증가를, 박 등<sup>4)</sup>은 인체의 太衝(LR3)의 전침자극이 뇌 자기공명영상(functional magnetic resonance imaging, fMRI)상 반대측 뇌영역에 활성이 증가됨을, 하 등<sup>5)</sup>은 인체에 대한 양측 太衝(LR3)의 전침자극이 fMRI상 뇌기능이 활성화됨을, 장<sup>6)</sup>은 太衝(LR3)에 대한 艾葉 藥鍼이 白鼠의 일과성 전뇌 허혈손상에 대하여 예방 및 치료 효과를, 윤<sup>7)</sup>은 太衝(LR3)에 대한 자침이 국소 뇌허혈손상에 대한 신경보호효과를 보고하였다. 그러나 이들 보고들은 鍼灸治療 효과를 판단하기 위한 실험적 연구로, 鍼灸治療시 임상에서 많이 활용되고 있는 迎隨 및 捻轉 補瀉와 直刺時 효과에 대한 비교 검증연구가 아직 미흡한 실정이다.

이에 太衝(LR3)에 대한 直刺, 迎隨補瀉 및 捻轉補瀉 鍼法이 腦虛血에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 focal ischemia 유발 白鼠에게 直刺, 迎隨補瀉 및 捻轉補瀉 鍼刺를 시행한 후, hippocampus 부위의 항뇌세포 고사 및 신경보호 효과를 관찰하여 다음과 같은 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

太衝(LR3)에 대한 迎隨 및 捻轉補瀉가 intraluminal filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 focal ischemia에 미치는 影響

## II. 材料 및 方法

### 1. 동물

실험동물은 삼육동물센터로부터 구입한 260~300g, 8 주령의 수컷 Sprague-Dawley계 白鼠로, 일주일간 실험실 환경(온도는 22±3℃, 습도는 50±10%)에 적응시킨 후 사용하였다. 각 cage당 3~4마리씩 넣었으며, 물과 사료(고형 사료, 삼양유지(주))를 자유로이 섭취하도록 하였다.

### 2. 실험군의 구성 및 절차

실험군들은 Ischemia유발과 침자를 시행하지 않은 정상군(Normal, n=8), Ischemia 유발군(Control, n=8), Ischemia 유발 후 太衝(LR3)에 直刺한 자침군(MA-1 n=8), Ischemia 유발 후 太衝(LR3)에 體幹쪽으로 45°로 斜刺한 迎隨補法 자침군(MA-2, n=8), Ischemia 유발 후 太衝(LR3)에 足趾쪽으로 45°로 斜刺한 迎隨瀉法 자침군(MA-3, n=8), Ischemia 유발 후 太衝(LR3)에 體幹쪽으로 45°로 斜刺한 후 左轉(施術者를 기준으로 시계방향)으로 9회 捻轉을 시행한 迎隨捻轉補法 자침군(MA-4, n=8), Ischemia 유발 후 太衝(LR3)에 足趾쪽으로 45°로 斜刺한 후 右轉(施術者를 기준으로 반시계방향)으로 6회 捻轉을 시행한 迎隨捻轉瀉法 자침군(MA-5, n=8)등 모두 7군으로 나누었다.

Ischemia 유발 3시간 후부터 각 군들은 1회/1日(오전 10 시) 치료를 시작하여, 21일간 太

衝(LR3)에 각각의 鍼刺를 시행한 다음 22일째에 白鼠를 희생시켜 뇌를 신속히 적출하거나 관류 고정하였다.

### 3. 取穴 및 鍼刺

흰쥐의 太衝(LR3) 부위는 左側下肢의 제1趾와 제2趾 사이의 歧骨사이의 本節後로 인체와 상응하는 부위를 취하였다. 침은 지름 170 $\mu$ m의 stainless steel(동방침구, 한국) 침이 사용되었으며, 鍼刺의 깊이는 피부층 하부에 위치하게 하는데 대략 2~3mm정도로 하였으며, 留鍼 시간은 약 100초간 유지되도록 刺鍼이 시행되었다.

### 4. Occlusion에 의한 허혈성 국소 뇌손상 유발

국소 뇌허혈은 Zea Longa<sup>8)</sup> 등의 방법에 따라 좌측중대뇌동맥을 폐색시켜 만들었다. 白鼠를 80% O<sub>2</sub>와 20% CO<sub>2</sub>가 혼합된 가스에 5% isoflurane(포란액, 중외제약, 한국)을 이용하여 흡입마취 유도를 한 후 2% isoflurane으로 계속 유지시켰다.

白鼠의 직장에 체온측정 probe를 삽입하고 가온등과 가온 매트리스를 이용하여 마취유지 기간동안 체온을 38℃로 유지하였다. 좌측 중대뇌동맥을 폐색하기 위하여 경부 정중선을 따라 피부를 절개하고 흉골허근과 흉골저작근 사이에 좌측 총경동맥을 노출한 후 좌측 내경동맥의 원위부를 최대한 확보한 후 혈관 미세클립(WPI, USA)을 이용하여 결찰하였고, 좌측

내경동맥과 intraluminal filament 사이의 출혈을 방지하기 위하여 6-0 silk suture실을 이용하여 좌측 총경동맥 근위부 및 좌측 외경동맥 분지부를 결찰하였다. 좌측 총경동맥의 좌측 외경동맥과 좌측내경동맥 분지부에서 1cm 정도 되는 좌측 내경동맥의 원위부에 미세혈관 가위(WPI, USA)를 사용하여 구멍을 내었다. 미세혈관클립을 제거한 후 좌측 내경동맥내로 20mm의 치과 인상제(Durelon, Germany)가 발라진 intraluminal filament(직경 0.28mm, rounded tip)를 좌측 내경동맥상의 구멍에 intraluminal filament가 faint resistance의 느낌이 느껴질 때 까지(약 17mm)부드럽게 삽입하여 그 끝이 좌측 중대뇌동맥까지 도달하도록 하여 좌측 중대뇌동맥부위에 국소 허혈을 유발하였다. 출혈을 방지하기 위하여 좌측 내경동맥상의 intraluminal filament 삽입부위를 가볍게 묶은 후 절개된 피부를 봉합하였다.

## 5. Total RNA 분리 및 Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

### 1) Total RNA 분리

Total RNA의 분리는 좌측 hippocampus 부위의 조직(3g)을 500 $\mu$ l TRIZOL reagent(Gibco-BRL, USA)로 균질화하고 균질액에 대해 1 ml의 chloroform(Sigma, USA)을 가하여 15초 동안 흔들어서 잘 혼합한 후, 실온상태에서 15분 방치하고 난 다음 세포 유잔물을 제거하기 위하여 4 $^{\circ}$ C, 14,000 rpm에서 15분 동안 원심

분리하였다. 원심분리로 얻어진 상층액과 1 ml의 isopropanol(sigma, USA)을 첨가하여 실온 상태에서 5 분 동안 방치한 후 RNA pellet을 얻기 위하여 4 $^{\circ}$ C, 14,000rpm에서 8분간 원심분리하고, 원심분리로 생긴 pellet에 냉장 보관된 70% ethanol과 함께 DEPC를 넣고 4 $^{\circ}$ C, 7,500 rpm에서 5분간 원심분리 후 pellet만 남기고 모두 제거하고, 남은 ethanol은 실온에서 5분간 방치시켜 건조시킨 다음 DEPC-treated water에 녹여 spectrophotometer(Eppendorf, Germany)에서 OD<sub>260</sub> 값을 읽어 RNA의 순도 및 농도를 정량하였다. 이들 뇌조직의 total RNA는 사용시까지 -70 $^{\circ}$ C에서 보관하였다.

### 2) RT-PCR

분리된 total RNA 2 $\mu$ g과 2.5 $\mu$ l Oligo (dT), DEPC-treated water를 RT Premix(Bioneer, Korea)에 넣어 Mastercycler gradient(Eppendorf, Germany)를 이용하여 50 $\mu$ l cDNA를 합성하여 PCR 증폭을 위한 template로 사용하였다. 이때 housekeeping 유전자인 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(GAPDH)(sense primer: 5'-TGCATCCTGCACCACCAACT-3', antisense primer: 5'-CGCCTGCTTCACCACC TTC-3')를 internal control로 사용하였다. Reverse transcription temperature cycle은 42 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 cDNA synthesis, 94 $^{\circ}$ C에서 5분 동안 denature 그리고 4 $^{\circ}$ C에서 5분 동안 cooling시키는 단계를 거쳤다. mGluR5 유전자에 대한 白鼠의 특이 primer는 PCR-premix kit(Bioneer, Korea)를 사용하였다. Polymerase chain reaction은 cDNA 2 $\mu$ l, mGluR5 sense primer 1 $\mu$ l, mGluR5 antisense primer 1 $\mu$ l,

## 太衝(LR3)에 대한 迎隨 및 捻轉補瀉가 intraluminal filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 focal ischemia에 미치는 影響

DEPC-treated water를 PCR Premix(Bioneer, Korea)에 넣는다. PCR temperature cycle은 cDNA의 증폭을 위하여 95°C에서 30초 동안 pre-denaturation, 94°C에서 40초 동안 melting, 55°C에서 40초 동안 annealing, 72°C에서 90초 동안 extension하는 과정을 30회 반복 수행하고 마지막 cycle에서 72°C에서 600초 동안 extension 단계를 거쳐 mGluR5 유전자증폭을 Primer(sense primer: 5'-TCCAATCTGC TCCTCC TACC-3', antisense primer: 5'-CAACGATGAAGAACTCT GCG-3')를 이용하여 Mastercycler gradient(Eppendorf, Germany)에서 시행하였다.

이렇게 증폭된 mGluR5의 DNA를 ethidium bromide(EtBr, 10mg/ml)를 포함한 1.5% agarose gel상에서 0.5x TBE buffer (80mM Tris-HCL, 80mM boric acid, 2mM EDTA, pH 8.3)로 100V에서 전기 영동시켜 관찰한 후 UVP Transilluminator/Polaroid camera system (UVP Laboratories, CA)을 이용하여 촬영하였으며, 발현은 Scion image program(Scion Corp. MD, U.S.A.)을 이용하여 측정하였다.

## 6. Western blotting

### 1) Protein preparation

적출된 뇌의 해마부위를 신속히 액체 질소에 급속 냉동시키고 분석할 때까지 -70°C에서 보관하여, Bax 단백질발현을 Western blot방식을 이용하여 관찰했다. 白鼠의 hippocampus에 NP40 lysis buffer(pH8.0 50mM Tris HCl, 150 mM NaCl, 5mM EDTA, 0.2mM PMSF (Phenylmethyl-sulfonylfluoride), 1% NP-40, 1 mM Benzamidine, 1 $\mu$ g/ml Trypsin inhibitor)와

1x Protease Cocktail inhibitor(Roche) 혼합액을 500 $\mu$ l를 넣어 homogenization한다. 이 sample을 20분간 ice상태에 놓아둔 후 12,000rpm에서 20분간(4°C상태) 원심분리한 후 상층액을 분리한다. 이 sample은 bicinchonic acid assay kit (Bio Rad, CA)를 사용해 정량한다. 96 well plate에 BCA 용액(A:B=20:1) 100 $\mu$ l을 넣고 protein 5 $\mu$ l를 넣은 후 37°C에서 20분간 방치시킨 후, 570nm에서 ELISA reader (Biorad, USA)를 사용해 측정하였다.

### 2) Electrophoresis

12% polyacrylamide resolving gel은 30분간 굳히고, 4% polyacrylamide stacking gel은 resolving gel 위에 붓고 comb을 꽂아 30분간 굳힌다. Gel running tank에 장착하고 pH 8.3의 running buffer(0.025M Tris, 0.192M glycine, 10% SDS)를 붓는다. 4x SDS sample buffer(pH 6.8 100mM Tris, 4% SDS, 20% glycerol, 0.2% bromophenol blue, 200mM DTT, 10% 2-mercaptoethanol) 5 $\mu$ l에 정량된 단백질 sample을 넣어 100°C에서 5분간 끓인다. 80V(200mA)로 전기영동한다.

### 3) Electrotransfer

전기영동이 끝난 gel은 transfer buffer(25 mM Tris, 192mM glycine, 20% methanol)에 filter paper, nitrocellulose membrane을 얹고 60 V에서 3시간 transfer한다. Membrane은 5% nonfat milk와 TBST(0.1% Tween20 in pH 7.4 Tris-based saline buffer)에 1시간 등

안 blocking하고 TBST로 2회 washing한다. Bax antibody(Cell signalling, USA)를 2% nonfat milk/TBST(1:2000 dilution)에서 4℃에서 overnight한다. TBST로 4회 washing후 horseradish peroxidase-labeled anti-rabbit IgG(Cell signalling, USA)를 2% nonfat milk/TBST(1:2000 dilution)에서 1시간 배양하고 TBST로 4회 washing한다. Membrane은 TBST를 제거한 후 enhanced chemiluminescence plus(Amersham, UK)를 넣은 후 3분 동안 반응시키고 transmitter scanning video-densitometer (Bioneer, Korea)에 넣고 감광시킨다. 발현된 Bax의 band는 ECL film(Amersham, UK)을 developer(Ilford, 1:10)와 Fixer(Ilford, 1:5)에서 현상하였다. 발현된 Bax의 intensity는 image master VDS(1D ver.2.1, Pharmacia biotech, USA)로 정량하였다.

## 7. Immunohistochemistry

### 1) Cresyl violet 염색

모든 실험이 끝난 직후 白鼠를 pentobarbital sodium (100mg/kg, i.p.)로 마취시킨 후, 0.9% saline 200ml에 이어 phosphate buffer로 준비한 4% formalin 용액(fixative) 800ml로 심장을 통해 관류하였다. 처음 고정액 200ml는 2분간 빠른 유속으로, 그리고 나머지 800ml는 25분간에 걸쳐 천천히 관류하였다. 고정이 끝난 쥐는 뇌를 꺼내 같은 고정액으로 2시간 경과 후 고정시키고, 20% sucrose가 함유된 phosphate

buffered saline(PBS)에 넣어 4℃에서 하루 동안 보관하였다. 다음날 뇌를 급속 냉동한 후 뇌 조직을 hippocampus 부위를 30 $\mu$ m의 두께로 잘랐다. PBS로 조직을 몇 차례 씻고 xylene(5min), 100% alcohol(2min), 95% alcohol(1min), 70% alcohol(1min), D.W.(2min)순으로 옮겨 담아 탈지, 탈수를 시킨 다음 Cresyl violet buffer(5min)로 염색을 하였다. 염색이 끝난 조직은 광학현미경(Olympus, Japan)을 사용하여 40배로 확대하여 관찰하였고, 신경세포의 밀도를 Scion image program (Scion Corp. MD, U.S.A.)을 이용하여 측정하였다.

### 2) Choline acetyltransferase(ChAT) 및 Nerve Growth Factor(NGF)염색

뇌 조직을 PBS에 3회 정도 세척한 후 ChAT 유전자 발현 연구에 가장 널리 사용되고 있는 primary sheep ChAT anti-body(1:1,500, polyclonal, Cambridge Research Bio-chemicals, Wilmington, DE, U.S.A.)와 anti-NGF(1:500, polyclonal, Santa Cruz Biotechnology Inc., California, U.S.A.)를 사용하였다. 1차 항체는 PBS에 0.3% Triton X-100을 첨가한 PBST에서 2% 토끼 혈청과 0.1% sodium acid(Sigma, St. Louis, MO, U.S.A.)로 200배 희석하여 준비하였다. 뇌 조직은 1차 항혈청에 4℃에서 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 Labora-

太衝(LR3)에 대한 迎隨 및 捻轉補瀉가 intraluminal filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 focal ischemia에 미치는 影響

tories, Burlingame, CA, U.S.A.)에 반응시켰다. PBST로 3번 씻은 다음, 뇌 조직은 실온에서 2 시간 동안 Vectastain Elite ABC reagent(Vector)에 위치시켰다. PBS로 몇 번 행군 다음 조직을 nickel chloride로 강화시키고 착색제로서 diaminobenzidine (DAB)을 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 40배로 확대하여 hippocampus에서 ChAT-immunoreactive 및 NGF-immuno reactive 신경 세포의 밀도를 Scion image program(Scion Corp. MD, U.S.A.)을 이용하여 측정하였다.

### 8. 통계처리

모든 측정값은 Excel statistic program (Excel2002, Microsoft, USA)을 이용하여 평균치와 표준오차(mean±standard error)로 표시하였고, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 Window용 SPSS(ver10.0.5, SPSS, USA)을 사용하여 비모수적 방법으로 Mann-Whitney U test를 시행하였다. 각 실험군은 대조군에 비하여  $\alpha = 0.05$  수준( $P < 0.05$ )과  $\alpha = 0.01$  수준( $P < 0.01$ )에서 유의성을 검정하였다<sup>9)</sup>.

## III. 結 果

### 1. mGluR5 발현 변화

각 군에서 hippocampal CA1 부위의 mGluR5 발현정도를 관찰한 결과 Normal군은  $48.7 \pm 3.95 (*1000 \text{ OD})$ , Control군은  $37.3 \pm 1.02 (*1000 \text{ OD})$ , MA-1군은  $41.7 \pm 0.47 (*1000 \text{ OD})$ , MA-2군은  $41.1 \pm 1.51 (*1000 \text{ OD})$ , MA-3군은

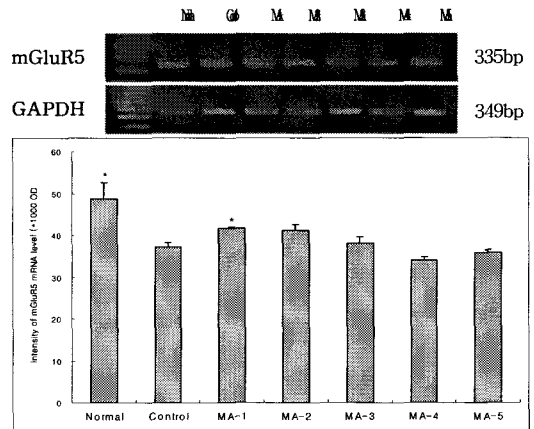


Fig. 1. Effect of acupuncture techniques of tonification or sedation at LR3 on the intensity of mGluR5 mRNA in the hippocampal CA1. Results are shown as mean±SE. GAPDH, a housekeeping gene, was used as an internal control. Normal, intactness group; control group, no therapy group after being ischemia induced; MA-1, acupuncture perpendicularly without tonification or sedation techniques at LR3 after being ischemia induced; MA-2, acupuncture obliquely towards the knee at LR3 after being ischemia induced; MA-3, acupuncture obliquely towards the toe at LR3 after being ischemia induced; MA-4, acupuncture obliquely towards the knee and rotate 9 times in a clockwise direction at LR3 after being ischemia induced; MA-5, acupuncture obliquely towards the toe and rotate 6 times in a counterclockwise direction at LR3 after being ischemia induced. \*,  $P < 0.05$  as compared with the control group.

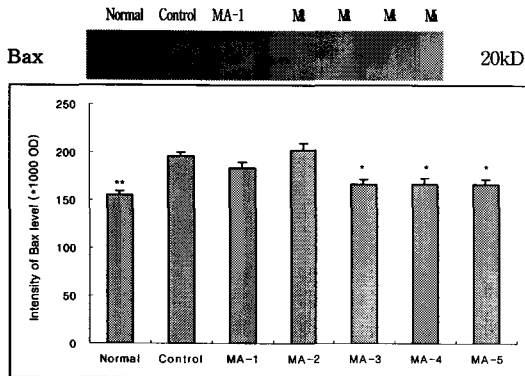


Fig. 2. Effect of acupuncture techniques of tonification or Sedation at LR3 on the intensity of bax in the hippocampal CA1. Results are shown as mean±SE. Normal, intactness group; Control group, no therapy group after being ischemia induced; MA-1, acupuncture perpendicularly without tonification or Sedation techniques at LR3 after being ischemia induced; MA-2, acupuncture obliquely towards the knee at LR3 after being ischemia induced; MA-3, acupuncture obliquely towards the toe at LR3 after being ischemia induced; MA-4, acupuncture obliquely towards the knee and rotate 9 times in a clockwise direction at LR3 after being ischemia induced; MA-5, acupuncture obliquely towards the toe and rotate 6 times in a counterclockwise direction at LR3 after being ischemia induced. \*, P<0.05, \*\*, P<0.01 as compared with the control group.

338.2±1.57(\*1000 OD), MA-4군은 34.1±0.83 (\*1000 OD), MA-5군은 35.9±0.76(\*1000 OD)으로, Control군에 비해 Normal군과 MA-1군에서 유의하게 증가하였다(P<0.05)(Fig. 1).

## 2. Bax 발현 변화

각 군에서 hippocampal CA1 부위의 Bax 발현 정도를 관찰한 결과 Normal군은 155.1±3.86(\*1000 OD), Control군은 195.6±4.47(\*1000

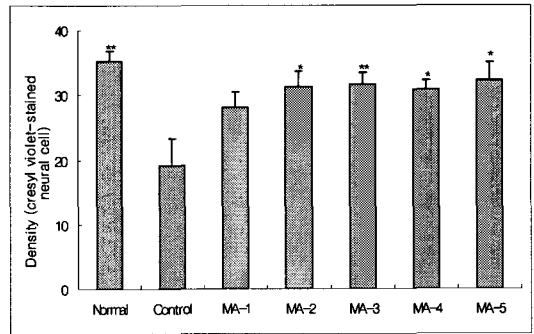


Fig. 3. Effect of acupuncture techniques of tonification or sedation at LR3 on the density of cresyl violet-stained neural cell sections in the hippocampal CA1. Results are shown as mean±S.E. Normal, intactness group; Control group, no therapy group after being ischemia induced; MA-1, acupuncture perpendicularly without Tonification or Sedation techniques at LR3 after being ischemia induced; MA-2, acupuncture obliquely towards the knee at LR3 after being ischemia induced; MA-3, acupuncture obliquely towards the toe at LR3 after being ischemia induced; MA-4, acupuncture obliquely towards the knee and rotate 9 times in a clockwise direction at LR3 after being ischemia induced; MA-5, acupuncture obliquely towards the toe and rotate 6 times in a counterclockwise direction at LR3 after being ischemia induced. \*, P<0.05, \*\*, P<0.01 as compared with the control group.

OD), MA-1군은 183.2±6.46(\*1000 OD), MA-2군은 202.4±6.49(\*1000 OD), MA-3군은 166.5±5.55(\*1000 OD), MA-4군은 166.9±5.54(\*1000 OD), MA-5군은 166.8±4.68(\*1000 OD)로, Control군에 비해 Normal군(P<0.01), MA-3군(P<0.05), MA-4군(P<0.05), MA-5군(P<0.05)에서 유의하게 감소하였다(Fig. 2).

## 3. Cresyl violet을 이용한 신경세포 손상 방어효과



太衝(LR3)에 대한 迎隨 및 捻轉補瀉가 intraluminal filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 focal ischemia에 미치는 影響

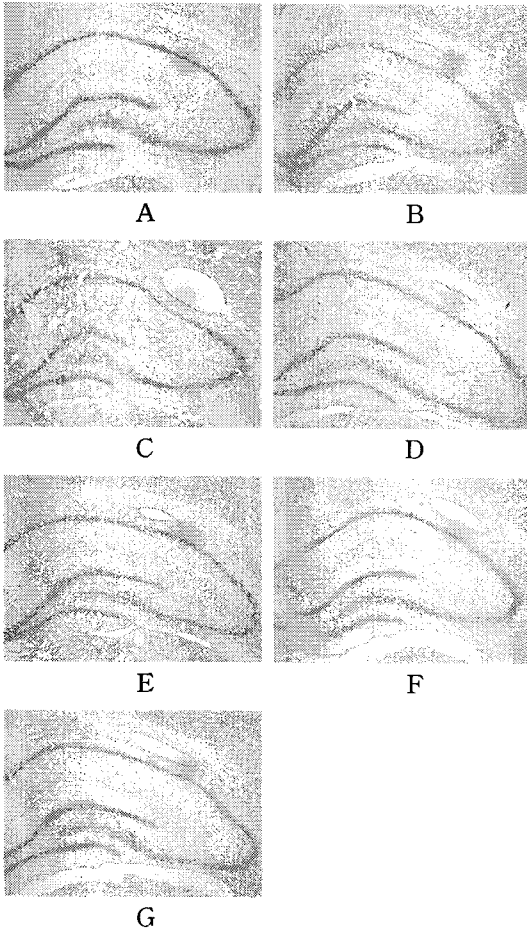


Fig. 4. Representative photomicrographs of coronal sections in the hippocampal CA1. A, Normal group; B, Control group; C, MA-1 group; D, MA-2 group; E, MA-3 group; F, MA-4 group; G, MA-5 group. Cresyl violet-stain.  $\times 40$ .

각 군에서 hippocampal CA1 부위를 Cresyl violet에 염색하여 신경세포의 손상방어 효과를 관찰한 결과 Normal군은  $35.3 \pm 1.54$  (Density), Control군은  $19.2 \pm 3.99$  (Density), MA-1군은  $28.0 \pm 2.43$  (Density), MA-2군은  $31.2 \pm 2.39$  (Density), MA-3군은  $31.6 \pm 1.75$  (Density), MA-4군은  $30.8 \pm 1.43$  (Density), MA-5군은  $32.2 \pm$

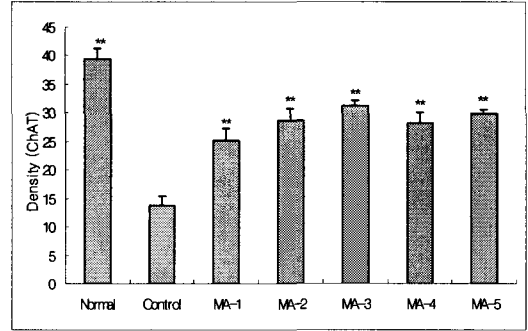


Fig. 5. Effect of acupuncture techniques of tonification or sedation at LR3 on the density of Choline acetyltransferase(ChAT)-stained sections in the hippocampal CA1. Results are shown as mean $\pm$ SE. Normal, intactness group; Control group, no therapy group after being ischemia induced; MA-1, acupuncture perpendicularly without Tonification or Sedation techniques at LR3 after being ischemia induced; MA-2, acupuncture obliquely towards the knee at LR3 after being ischemia induced; MA-3, acupuncture obliquely towards the toe at LR3 after being ischemia induced; MA-4, acupuncture obliquely towards the knee and rotate 9 times in a clockwise direction at LR3 after being ischemia induced; MA-5, acupuncture obliquely towards the toe and rotate 6 times in a counterclockwise direction at LR3 after being ischemia induced. \*\*,  $P < 0.01$  as compared with the control group.

2.93(Density)으로, Control군에 비해 Normal군 ( $P < 0.01$ ), MA-2군( $P < 0.05$ ), MA-3군( $P < 0.01$ ), MA-4군( $P < 0.05$ ), MA-5군( $P < 0.05$ )이 유의하게 증가하였다(Fig. 3, 4).

#### 4. ChAT 발현

각 군에서 hippocampal CA1 부위의 ChAT 발현정도를 관찰한 결과 Normal군은  $39.4 \pm 1.82$  (Density), Control군은  $13.8 \pm 1.56$  (Density),

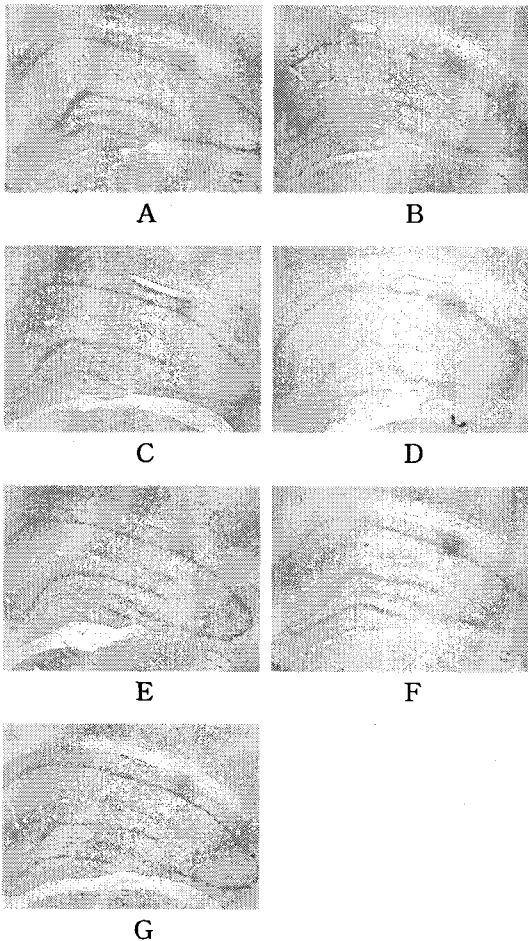


Fig. 6. Representative photomicrographs of coronal sections in the hippocampal CA1. A, Normal group; B, Control group; C, MA-1 group; D, MA-2 group; E, MA-3 group; F, MA-4 group; G, MA-5 group. ChAT-stain.  $\times 40$ .

MA-1군은  $25.2 \pm 2.07$ (Density), MA-2군은  $28.7 \pm 2.11$ (Density), MA-3군은  $31.2 \pm 1.02$ (Density), MA-4군은  $28.2 \pm 1.98$ (Density), MA-5군은  $29.8 \pm 0.66$ (Density)으로, Control군에 비해 모든 군들에서 유의하게 증가하였다( $P < 0.01$ ) (Fig. 5, 6).

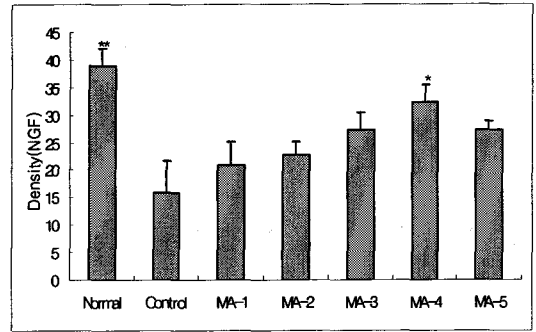


Fig. 7. Effect of acupuncture techniques of tonification or sedation at LR3 on the density of nerve growth factor(NGF)-stained sections in the hippocampal CA1. Results are shown as mean $\pm$ SE. Normal, intactness group; Control group, no therapy group after being ischemia induced; MA-1, acupuncture perpendicularly without Tonification or Sedation techniques at LR3 after being ischemia induced; MA-2, acupuncture obliquely towards the knee at LR3 after being ischemia induced; MA-3, acupuncture obliquely towards the toe at LR3 after being ischemia induced; MA-4, acupuncture obliquely towards the knee and rotate 9 times in a clockwise direction at LR3 after being ischemia induced; MA-5, acupuncture obliquely towards the toe and rotate 6 times in a counterclockwise direction at LR3 after being ischemia induced. \*,  $P < 0.05$ , \*\*,  $P < 0.01$  as compared with the control group.

## 5. NGF 발현

각 군에서 hippocampal CA1 부위의 NGF 발현 정도를 관찰한 결과 Normal군은  $39.0 \pm 3.0$ (Density), Control군은  $16.0 \pm 5.59$ (Density), MA-1군은  $21.0 \pm 4.03$ (Density), MA-2군은  $22.8 \pm 2.42$ (Density), MA-3군은  $27.2 \pm 3.21$ (Density), MA-4군은  $32.4 \pm 3.05$ (Density), MA-5군은  $27.2 \pm 1.60$ (Density)으로, Control군에 비해 Normal군( $P < 0.01$ ), MA-4군( $P < 0.05$ )이 유의하

太衝(LR3)에 대한 迎隨 및 捻轉補瀉가 intraluminal filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 focal ischemia에 미치는 影響

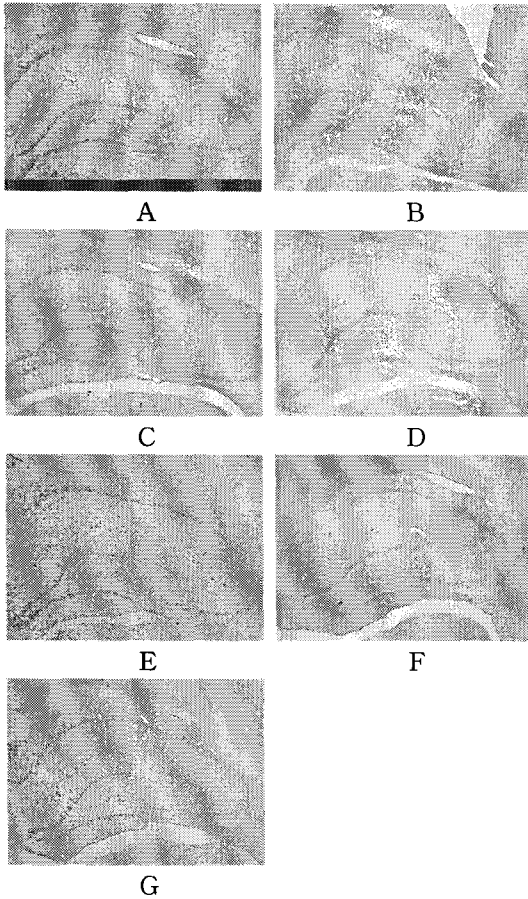


Fig. 8. Representative photomicrographs of coronal sections in the hippocampal CA1. A, Normal group; B, Control group; C, MA-1 group; D, MA-2 group; E, MA-3 group; F, MA-4 group; G, MA-5 group. NGF-stain.  $\times 40$ .

게 증가하였다(Fig. 7, 8).

#### IV. 考 察

經絡理論과 臟象論을 바탕으로 한 刺鍼療法은 氣血의 運行을 調和시키는 調氣作用과 經絡의 氣血의 運行을 강화시키는 治神 作用을 통하여 人身의 氣血循環을 調節하기 위한 것으

로, 鍼刺治病의 원리는 자극 부위의 腧穴을 鍼刺로 소통시켜 經絡의 調整 및 傳導作用을 발휘하게 한 후 臟腑에 전달되어 陰平陽秘, 邪去正復하는 것이다<sup>10</sup>. 침자치료의 자극점인 腧穴은 經絡上 脈氣所發의 孔隙으로 체표와 장부를 연결하는 相通의 침구시술 부위로서 病症의 반응점이며, 치료점이라고 할 수 있다<sup>11</sup>.

太衝(LR3)은 足厥陰肝經의 세 번째 經穴로 足厥陰肝經의 俞穴이며 五行上 土穴에 속하고 肝의 原穴이다. 《靈樞·本輸篇》<sup>12</sup>과 《素問·至真要大論》<sup>13</sup>에 언급된 이래로, “平肝泄熱, 清肝火肝陽, 清頭目, 利下焦濕熱, 疏肝利氣, 通絡活血”의 穴性을 가지며, 순환기, 비노생식기, 부인과, 소화기, 운동기, 간계 및 정신신경과 질환 등에 다양하게 응용되고 있다. 특히 순환기 질환에서는 心痛, 頭痛, 眩暈, 高血壓, 癱瘓 등의 증상에 많이 활용되고 있다.

국소 뇌허혈 모델은 흰쥐에 일시적으로 뇌에 공급되는 혈관들을 차단한 후 재관류하게 되면 주로 Hippocampus부분의 신경세포가 손상을 입게 되는데, 5-7일이 경과되면 apoptosis와 비슷한 세포 손상과 인지 및 학습장애를 일으키게 되는 것으로<sup>14,15</sup>, global하지 않고 전뇌에만 제한하여 後腦에서의 혈류가 영향을 받지 않아, 호흡과 체순환에 영향을 주지 않는다는 점에서 허혈로 인한 신경손상의 연구에 다용되고 있다. 본 모델에서 일시적인 뇌허혈 후 재관류로 인한 신경세포의 손상은 다른 부위에 비해 Hippocampus의 CA1 pyramidal neuron들에서 선택적으로 발생된다<sup>16,17</sup>. 그 기전은 아직 명확

히 밝혀진 바는 없으나, 허혈후 주어진 자극에 대한 예민성 증가에 의한 신경세포의 과활동, 칼슘을 매개로 하는 글루탐산 흥분독성, 미토콘드리아 손상과 단백질 합성의 장애, 유리산소기에 의한 손상, 에너지 대사와 뇌혈액 순환 이상 등이 관여할 것으로 여겨지고 있으며<sup>18)</sup>, 최근 치료약물로 glutamate receptor antagonists<sup>19)</sup>, calcium channel antagonist<sup>20)</sup>, GABA neurotransmission 촉진제<sup>21)</sup>, NOS inhibition<sup>22)</sup>, antioxidants<sup>23)</sup> 등이 연구되고 있으나 효과와 안정성문제가 제기되고 있다. Hippocampus는 medial septal nucleus에 위치한 세포체로부터 투사되는 콜린성 신경전달경로로서<sup>24)</sup>, 학습수행 및 기억력에 관여하여 뇌허혈 등으로 인한 해마의 손상은 방사형 미로와 같은 공간 기억과제를 학습하는 능력에 장애를 보이게 된다<sup>25,26)</sup>.

이에 뇌기능활성에 밀접한 연관이 있는 太衝(LR3)에 대한 直刺, 迎隨補瀉 및 捻轉補瀉時實驗적으로 虛血性 局所 腦損傷을 일으킨 뇌허혈 모델에 미치는 영향을 관찰해보고자, hippocampus CA1부위의 mGluR5, Bax, cresyl violet 신경세포손상, ChAT, NGF 등의 변화를 관찰하였다. 즉 본 연구에서는 補瀉에 따른 鍼刺의 효과를 각 지표로 분석하여 그 발현 양상을 관찰하고자 하였다.

Choline acetyltransferase(ChAT)에서는 直刺 및 補瀉 鍼法 실험군들 모두에서 그 효과가 발현되었다. Cholinergic system은 신경전달물질의 Acetylcholine(ACh), ACh의 합성효소인

Choline acetyltransferase(ChAT), ACh을 분해하는 분해효소인 acetylcholinesterase(AchE) 및 ACh 전달물질의 수용체가 포함된다. 그 중 AchE는 Cholinergic synapse에 존재하여, 신경전달 물질인 acetylcholine(ACh)을 choline과 acetic acid로 가수분해시키는 효소이다. 이 효소는 post-synaptic membrane의 수용체에 결합하는 Ach를 가수분해시켜 수용체의 정상적인 기능을 유지시키며, ACh의 생합성에 필요한 choline을 공급함으로써, 신경계가 원활하게 작용하는데 매우 중요한 역할을 하게 된다. 즉 ChAT에 있어서는 太衝(LR3)에 鍼刺한 각 실험군 모두 유의한 영향을 보인 것으로 나타났다. 이는 鍼刺가 시행되면 ChAT를 효과적으로 발현시키는 것으로 사료되며, 直刺를 시행하거나 補瀉 鍼法을 시행하는 경우 모두 그 효과는 발현됨을 나타낸다고 사료된다. 이는 太衝(LR3) 鍼刺가 신경계의 활성화에 주요한 영향을 미치며 補瀉와 관계없이 발현됨을 의미한다고 사료된다.

mGluR5와 cresyl violet에서는 直刺와 迎隨補瀉 및 捻轉補瀉와의 차이를 구분지우는 것으로 나타났다. mGluR5(Metabotropic glutamate receptors)은 뇌에 있어서 주요한 신경독성 물질이며 허혈이나 저혈당 및 산소결핍 후에 손상을 일으키게 하는 glutamate의 수용체 아형 단위로, glutamate의 조정반응을 매개하게 한다<sup>27)</sup>. mGluR5는 신경세포 흥분효과와 억제효과 등의 이중성이 연구 보고되고 있는데, 흥분 효과에 대한 약리학적 특징을 보고한 것은 많

## 太衝(LR3)에 대한 迎隨 및 捻轉補瀉가 intraluminal filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 focal ischemia에 미치는 影響

지는 않으며, 현재 glutamatergic terminal에서의 시냅스 전 억제작용을 함으로써 신경보호작용이 있다고 보고되고 있다<sup>28,29</sup>. 본 연구에서는 Hippocampal CA1 부위의 mGluR5 발현 변화를 관찰한 결과 Control군에 비해 MA-1군에서 유의하게 증가하였다. 즉 太衝(LR3)에 直刺가 mGluR5의 활성을 통하여 뇌신경독성작용을 완화하는 작용을 발휘하는 것으로 사료되며, 太衝(LR3)에 迎隨補瀉 및 捻轉補瀉를 시행하면 그 효과는 소실되는 것으로 나타났는데, 이는 直刺에 의한 자극이 mGluR5 발현에 보다 유리한 것으로 사료된다.

Cresyl violet에서는 太衝(LR3)에 直刺를 제외한 迎隨補瀉 및 捻轉補瀉를 시행한 경우에서 유의한 증가를 보였다. Hippocampal CA1 부위의 Cresyl violet 염색을 통한 신경세포 손상방어 효과를 관찰할 수 있었다. 본 연구에서 太衝(LR3)에 補法과 瀉法の 구분 없이 迎隨補瀉 및 捻轉補瀉를 시행하는 경우 모두 뇌신경세포의 손상 방어 효과가 발현되는 것으로 사료된다.

한편, Bax에서는 太衝(LR3)에 直刺 및 迎隨補法을 제외한 迎隨瀉法, 捻轉補法 및 捻轉瀉法을 시행한 경우에서 유의한 증가를 보였다. 세포사멸은 정상적인 세포의 발생, 교체, 종양의 퇴화, 호르몬 변화에 의한 조직의 위축, 세포매개면역 등에서 일어나는 것으로 알려져 있으나 뇌허혈, 뇌손상, 파킨슨씨병 등과 같은 병리적인 현상에 의해서도 일어날 수 있다. 세포손상을 일으키는 스트레스나 자극은 세포적응, 손상 및 세포사멸의 분자수준 변화를 형태학적

인 변화로 관찰 할 수 있다. 뇌허혈이 발생하면 대뇌 피질 뿐만 아니라 전반적인 뇌에서 형태학적인 변화가 일어나고 주변의 신경세포에서도 세포사멸이 진행되어 뇌손상이 온다. Bax는 Bcl-2 등의 BCL-family와 결합하여 평형 상태를 유지하게 되는데, 다량의 Bax 분자는 활성을 가지게 되어 Pro ICE/caspase를 활성화 시켜서 세포사멸을 촉진시킨다<sup>30</sup>.

Bax에서는 迎隨瀉法, 迎隨補法과 捻轉補法 동시시술 및 迎隨瀉法과 捻轉瀉法 동시시술을 시행하면 유의하게 감소를 보였는데, 이에 대한 의미로는 다음과 같이 요약해볼 수 있을 것으로 사료된다.

첫째, 迎隨補法이 유의한 결과를 보이지 않았으나 감소의 경향을 보인 것으로 보아, 直刺를 제외한 迎隨補瀉 및 捻轉補瀉가 유의하다는 것으로, 이는 cresyl violet의 효과와 동일한 결과이다.

둘째, 迎隨瀉法이 특이한 경향을 보인 것으로 이를 제외한 해석으로서, 迎隨補瀉와 捻轉補瀉를 동시에 시행한 경우가 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

셋째, 迎隨補法과 捻轉補法을 동시에 시행한 경우가 특이한 경향을 보였으므로, 迎隨瀉法 및 迎隨瀉法과 捻轉瀉法 동시에 시행한 경우, 즉 瀉法을 시행한 경우가 효과를 나타내는 것으로 사료된다. 본 연구에서는 첫 번째 해석이 더 타당할 것으로 사료된다.

Nerve growth factor(NGF)에서는 迎隨補瀉 및 捻轉補瀉시행이 가장 효과적인 것으로 나타

났다. NGF는 1950년대 Levi-Montalcini가 mouse sarcoma에서 분리한 27kD의 단백질로 교감성 말초신경 세포와 감각신경 세포에서 신경영양물질로서 작용 한다<sup>31,32</sup>). NGF는 신경계에서 광범위하게 분포되어 있으며, 특히 NGF receptor에 대한 면역조직화학 연구에 의하면 NGF가 MS, DBB, NBM 등에 많이 존재하며 콜린성 신경세포와 공존함<sup>33,34</sup>)이 밝혀졌다. 이러한 NGF가 해마에 注入되면 역행성 축삭 이동에 의해 MS-DBB complex의 콜린성 신경세포에까지 전달된다<sup>35</sup>). 또한 NGF는 acetylcholine 합성 효소인 choline acetyltransferase (ChAT)의 합성과 방출을 증가시켜 콜린성 신경세포의 재생 및 변성방지 역할을 하고<sup>36,37</sup>) 그 외의 중추신경계와 말초신경계에도 중요한 영향을 미친다<sup>38-41</sup>). 최근 배양된 pheochromocytoma(PCI2)세포에서 NGF는 ChAT<sup>42</sup>)와 galanin<sup>43</sup>)의 발현을 유도한다는 보고도 있다.

본 연구에서 hippocampal CA1 부위의 NGF 발현 정도를 살펴본 결과 太衝(LR3)에 迎隨補瀉法과 捻轉補瀉法을 시행한 군에서 유의성 있는 증가가 나타났는데, 太衝(LR3)에 대한 迎隨補瀉法과 捻轉補瀉法을 동시에 시행하는 것이 NGF에 영향을 주어 신경세포의 재생 및 변성방지 역할에 효과가 있음을 유추해볼 수 있었다. 즉 NGF 결과를 통에서 본 연구의 모델인 뇌허혈에 대한 가장 적절한 치법은 迎隨補瀉의 補法과 捻轉補瀉의 補法을 동시에 시행한 경우임을 나타낸다고 사료된다.

이것으로 보아 본 연구의 뇌허혈 모델에 대

한 침자의 효과를 直刺, 迎隨補瀉 및 捻轉補瀉 시행으로 구분하여 그 효과를 관찰한 결과, 鍼刺는 뇌의 기능회복에 일정한 효과를 발현하는 공통적인 작용과 특정 鍼刺 및 補瀉에 의해서 발현되는 특이적인 효과로 구분됨을 알 수 있었다.

즉 ChAT의 경우에는 直刺 및 補瀉法 시행군 모두에서 유의함을 보여 鍼刺의 공통적인 작용을 반영하는 것으로 사료된다. Cresyl violet, Bax의 경우에는 補瀉의 구분에 관계없이 모두 유의함을 보여 補瀉法의 공통적인 작용을 반영하는 것으로 사료된다. mGluR5의 경우에는 直刺만의 특이적인 효과를 반영하는 것으로 사료되며, NGF의 경우에는 迎隨補瀉 補法과 捻轉補瀉 補法의 특이적인 효과를 반영하는 것으로 사료된다.

## V. 結 論

太衝(LR3)에 대한 迎隨補瀉 및 捻轉補瀉 鍼法이 Intraluminal Filament 挿入術에 의해 誘發된 白鼠의 Focal Ischemia에 미치는 影響을 觀察한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. Hippocampal CA1 부위의 mGluR5 발현 변화에서 Control군에 비해 MA-1군이 유의하게 증가하였다.
2. Hippocampal CA1 부위의 Bax 발현 변화에서 Control군에 비해 MA-3군, MA-4군, MA-5군이 유의하게 감소하였다.

太衝(LR3)에 대한 迎隨 및 捻轉補瀉가 intraluminal filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 focal ischemia에 미치는 影響

3. Hippocampal CA1 부위의 Cresyl violet 염색을 통한 신경세포 손상방어 효과에서 Control군에 비해 MA-2군, MA-3군, MA-4군, MA-5군이 유의하게 증가하였다.
4. Hippocampal CA1 부위의 ChAT 발현에서 Control군에 비해 모든 실험군들이 유의하게 증가하였다.
5. Hippocampal CA1 부위의 NGF 발현에서 Control군에 비해 MA-4군이 유의하게 증가하였다.
6. 손상에 미치는 효과. 원광대박사학위논문. 2002.
7. 윤대환. Anti-apoptotic and neuroprotective effects of Acupuncture at LR3 and GB37 on focal brain ischemic injury induced by Intraluminal Filament insertion in Rats. 동신대학교 대학원. 동신대박사학위논문. 2006.
8. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke. 1989 ; 20(1) : 84-91.

### 參 考 文 獻

1. 송범용, 손인철, 김경식. 左右捻轉手技를 행한 鍼刺戟이 相應穴位의 溫度變化에 미치는 影響. 대한침구학회지. 1999 ; 16(1) : 386-7.
2. 藿靄春. 黃帝內經靈樞校註語釋. 天津 : 천지과학기술출판사. 1989 ; 1, 11.
3. 손영주, 정희상, 구자승, 원란, 김용석, 박영배 외. 흰쥐의 족삼리 및 태충 전침자극에 따른 뇌대사활성의 변화. 대한침구학회지. 2002 ; 19(1) : 159-74.
4. 박태균. 태충(Liv3)·합곡(LI4) 전침자극이 뇌활성 변화에 미치는 영향 : fMRI를 이용한 연구. 대전대박사학위논문. 2004.
5. 하지홍, 이현, 임윤경, 홍권의, 이병렬, 김연진. 태충(Liv3)의 전침자극이 fMRI상 뇌활성 변화에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2003 ; 20(5) : 187-207.
6. 장진요. 태충 애엽 약침이 일과성 전뇌 허혈
9. 정영해. SAS를 이용한 통계분석과 실습. 광주 : 도서출판월산. 1997 ; 131-7, 159-75.
10. 羅昌洙. 經絡·腧穴學 理論. 서울 : 정문각. 2001 ; 57, 60-1, 224-34.
11. 崔容泰, 李秀鎬. 精解鍼灸學. 서울 :杏林書院. 1974 ; 45-9, 153-5, 180.
12. 河北中醫學. 靈樞經校釋. 북경 : 인민위생출판사. 1982 ; 38.
13. 裴秉哲. 今釋黃帝內經素問. 서울 : 成輔社. 1999 ; 144. 799-851
14. 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.
15. Foster AC, Gill R, Woodruff GN. Neuroprotective effects of MK-801 in vivo: selectivity and evidence for delayed degener-

- ation mediated by NMDA receptor activation. *J Neurosci.* 1988 ; 8(12) : 4745-54.
16. **Petito CK, Feldmann E, Pulsinelli WA, Plum F.** Delayed hippocampal damage in humans following cardiorespiratory arrest. *Neurology.* 1987 ; 37(8) : 1281-6.
17. **Abe K, Aoki M, Kawagoe J, Yoshida T, Hattori A, Kogure K, et al.** Ischemic delayed neuronal death. A mitochondrial hypothesis. *Stroke.* 1995 ; 26(8) : 1478-89.
18. **Fujisawa A, Matsumoto M, Matsuyama T, Ueda H, Wanaka A, Yoneda S, Kimura K, et al.** The effect of the calcium antagonist nimodipine on the gerbil model of experimental cerebral ischemia. *Stroke.* 1986 ; 17(4) : 748-52.
19. **Gill R, Foster AC, Woodruff GN.** MK-801 is neuroprotective in gerbils when administered during the post-ischaemic period. *Neuroscience.* 1988 ; 25(3) : 847-55.
20. **Krieglstein J.** Pharmacology and drug therapy of cerebral ischemia : In *Cerebral ischemia and resuscitation* (Schurr A, Rigor BM, eds). Boca Raton. CRC. 1990 ; 347-71.
21. **Sternau LL, Lust WD, Ricci AJ, Ratcheson R.** Role for gamma-aminobutyric acid in selective vulnerability in gerbils. *Stroke.* 1989 ; 20(2) : 281-7.
22. **Moncada C, Lekieffre D, Arvin B, Meldrum B.** Effect of NO synthase inhibition on NMDA- and ischaemia-induced hippocampal lesions. *Neuroreport.* 1992 ; 3(6) : 530-2.
23. **Hall ED, Andrus PK, Smith SL, Fleck TJ, Scherch HM, Lutzke BS, et al.** Pyrrolopyrimidines: novel brain-penetrating antioxidants with neuroprotective activity in brain injury and ischemia models. *J Pharmacol Exp Ther.* 1997 ; 281(2) : 895-904.
24. **Johnston MV, McKinney M, Coyle JT.** Evidence for a cholinergic projection to neocortex from neurons in basal forebrain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1979 ; 76(10) : 5392-6.
25. **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 Sci.* 1988 ; 42(4) : 375-83.
26. **Sutherland RJ, Rodriguez AJ.** The role of the fornix/fimbria and some related subcortical structures in place learning and memory. *Behav Brain Res.* 1989 ; 32(3) : 265-77.
27. **Choi DW.** Calcium-mediated neurotoxicity: relationship to specific channel types and role in ischemic damage. *Trends Neurosci.* 1988 ; 11(10) : 465-9.
28. 김해규, 김평주, 백승완, 김인세, 정규섭. 흰



太衝(LR3)에 대한 迎隨 및 捻轉補瀉가 intraluminal filament 挿入術에 의하여 誘發된 白鼠의 focal ischemia에 미치는 影響

- 귀에서 뇌허혈시 해마의 glutamate Receptor(mGluR5)변화에 대한 분자생물학적 연구. 대한중환자의학회지. 2000 ; 15(2) : 75-81.
29. Bruno V, Copani A, Battaglia G, Raffaele R, Shinozaki H, Nicoletti F. Protective effect of the metabotropic glutamate receptor agonist, DCG-IV, against excitotoxic neuronal death. *Eur J Pharmacol.* 1994 ; 256(1) : 109-12.
30. Nickells RW. Apoptosis of retinal ganglion cells in glaucoma: an update of the molecular pathways involved in cell death. *Surv Ophthalmol.* 1999 ; 43 (1) : S151-61.
31. Levi-Montalcine R and Angeletti PU. The nerve growth factor. *Physiol Res.* 1968 ; 8 : 534-69.
32. Green LA, Shooter EM. The nerve growth factor : biochemistry, synthesis and mode of action. *Ann Res Neuroscience.* 1980 ; 3 : 353-402.
33. Korsching S, Auburger G, Heumann R, Scott J, Thoenen H. Levels of nerve growth factor and its mRNA in the central nervous system of the rat correlate with cholinergic innervation. *EMBO J.* 1985 ; 4(6) : 1389-93.
34. Kordower JH, Bartus RT, Bothwell M, Schatteman G, Gash DM. Nerve growth factor receptor immunoreactivity in the nonhuman primate (*Cebus apella*): distribution, morphology, and colocalization with cholinergic enzymes. *J Comp Neurol.* 1988 ; 277(4) : 465-86.
35. Schwab ME, Otten U, Agid Y. Nerve growth factor(NGF) in the rat CNS. *Brain Res.* 1979 ; 168 : 473-83.
36. Gage FH, Armstrong DM, Williams LR, Varon S. Morphological response of axotomized septal neurons to nerve growth factor. *J Comp Neurol.* 1988 ; 269(1) : 147-55.
37. Hagg T, Manthorpe M, Vahlsing HL, Varon S. Delayed treatment with nerve growth factor reverses the apparent loss of cholinergic neurons after acute brain damage. *Exp Neurol.* 1988 ; 101(2) : 303-12.
38. Gnahn H, Hefti F, Heumann R, Schwab ME, Thoenen H. NGF-mediated increase of choline acetyltransferase (ChAT) in the neonatal rat forebrain: evidence for a physiological role of NGF in the brain? *Brain Res.* 1983 ; 285(1) : 45-52.
39. Hefti F, Dravid A, Hartikka J. Chronic intraventricular injections of nerve growth factor elevate hippocampal choline acetyltransferase activity in adult rats with partial septo-hippocampal lesions. *Brain Res.* 1984 ; 293(2) : 305-11.
40. Hefti F, Hartikka J, Eckenstein F, Gnahn H, Heumann R, Schwab M. Nerve growth

- factor increases choline acetyltransferase but not survival or fiber outgrowth of cultured fetal septal cholinergic neurons. *Neuroscience*. 1985 ; 14(1) : 55-68.
41. Martinez HJ, Dreyfus CF, Jonakait GM, Black IB. Nerve growth factor promotes cholinergic development in brain striatal cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985 ; 82(22) : 7777-81.
42. Heumann R, Schwab M, Merkl R, Thoenen H. Nerve growth factor-mediated induction of choline acetyltransferase in PC12 cells: evaluation of the site of action of nerve growth factor and the involvement of lysosomal degradation products of nerve growth factor. *J Neurosci*. 1984 ; 4(12) : 3039-50.
43. Kaplan LM, Hooi SC, Abracinkas DR. Neuroendocrine regulation of galanin expression. New York : MacMillan. 1991 ; 43-65.